GEHALT UND SPEKTRUM DER PROTEINE VERSCHIEDEN ALTEN KIEFERNSPLINTHOLZES (PINUS SYLVESTRIS L.) UND DEREN EINFLUSS AUF ENTWICKLUNG UND AMINOSÄUREHAUSHALT VON HAUSBOCKLARVEN (HYLOTRUPES BAJULUS L.)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
vorgelegt dem Fachbereich Biologie
der
Freien Universität Berlin

von
Ulla Adelsberger
aus Mährisch-Ostrau

1975

GEHALT UND SPEKTRUM DER PROTEINE VERSCHIEDEN ALTEN KIEFERNSPLINTHOLZES (PINUS SYLVESTRIS L.) UND DEREN EINFLUSS AUF ENTWICKLUNG UND AMINOSÄUREHAUSHALT VON HAUSBOCKLARVEN (HYLOTRUPES BAJULUS L.)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
vorgelegt dem Fachbereich Biologie
der
Freien Universität Berlin

von
Ulla Adelsberger
aus Mährisch-Ostrau

Erster Referent: Prof. Dr. K. Urich
Zweiter Referent: Prof. Dr. H. Clauss

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Prüfung: 17. 2. 1975

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG 4

MATERIAL UND METHODEN 10

1. Beschaffung und Vorbereitung der Versuchshölzer 10

2. Aufzucht und Auswahl des Tiermaterials 12

3. Durchführung der Fraßversuche 12

4. Analytische Vorversuche 14

4.1. Freie Aminosäuren im Holzmaterial 14

4.2. Untersuchung verschiedener Proteinhydrolysen 15

4.2.1. Enzymatische Hydrolyse 17

4.2.1.1. Tiermaterial 18

4.2.1.2. Holzmaterial 19

4.2.2. Salzsaure Hydrolyse 19

4.2.2.1. Tiermaterial 20

4.2.2.2. Holzmaterial 20

4.3. Aminosäureverluste bei der Hydrolyse der Holzproteine 21

4.3.1. Zerstörungsgrad der Aminosäuren 21

4.3.2. Stickstoffgehalt im Hydrolyserückstand 22

5. Analysen des Tiermaterials 23

5.1. Bestimmung des Gesamtstickstoffs 25

5.2. Bestimmung der freien Aminosäuren 25

5.3. Bestimmung der proteingebundenen Aminosäuren 26

6. Analysen von Holz und Bohrmehl 27

6.1. Bestimmung des Gesamtstickstoffs 27

6.2. Bestimmung der Gesamtaminosäuren 27

7. Aminosäurebestimmung am Aminosäureanalysator 28

8. Auswertung der Chromatogramme 29

9. Allgemeine Anmerkungen 29

ERGEBNISSE UND DISKUSSION 32

1. Vorversuche 32

1.1. Freie Aminosäuren im Holzmaterial 32

1.2. Aminosäureausbeute der salzsauren Proteinhydrolyse 32

1.2.1. Tiermaterial 33

1.2.2. Holzmaterial 33

1.3. Aminosäureausbeute der enzymatischen Hydrolyse 34

1.3.1. Tiermaterial 34

1.3.2. Holzmaterial 34

1.4. Vergleich der beiden Hydrolyseverfahren 35

1.5. Aminosäureverluste bei der HCl-Hydrolyse der Holzproteine 36

1.5.1. Zerstörungsgrad der Aminosäuren 36

1.5.2. Stickstoffgehalt im Hydrolyserückstand 38

2. Stickstoff- und Proteinhaushalt der Kiefernhölzer 39

2.1. Stickstoff- und Proteingehalt 39

2.2. Beziehungen zwischen Stickstoffgehalt, Proteingehalt und Holzalter 41

2.3. Gesamtaminosäurespektren 45

2.3.1. Unbehandeltes Holz 45

2.3.2. Peptongetränktes Holz 50

3. Entwicklung und Verdauung der Hausbocklarven 54

3.1. Nahrungsaufnahme 54

3.2. Verwertung der Holznahrung 55

3.3. Ausnutzung der Holzproteine 59

3.4. Wachstumsraten 61

3.5. Untersuchte Einflüsse auf das Larvenwachstum 65
3.5.1. Stickstoffgehalt des Holzes 65
3.5.2. Proteingehalt des Holzes 65
3.5.3. Proteinaufnahme 68
3.5.4. Aminosäureaufnahme 70
4. Protein- und Aminosäurehaushalt der Hausbocklarven 73
4.1. Stickstoff-, Protein- und Aminosäuregehalt 73
4.2. Aminosäurespektren 76
4.2.1. Proteingebundene Aminosäuren 76
4.2.2. Freie Aminosäuren 82
4.3. Aminosäuren in den Faeces 86
ZUSAMMENFASSUNG 88
LITERATURVERZEICHNIS 90

EINLEITUNG

Die Larven des Hausbockkäfers (Hylotrupes bajulus L.) zählen zu den in Mitteleuropa verbreitetsten und gefährlichsten Schädlingen des verbauten Holzes. Als sogenannte "Sekundärinsekten" sind sie weder in lebenden Bäumen, noch in gefälltem, schon faulendem Holz zu finden; bevorzugter Lebensraum ist das luftige, trockene Dachstuhlgebälk von Häusern (BECKER 1942 a, VITÉ 1952, u. a.). Befallen wird ausschließlich Nadelholz, da Laubholz einen natürlichen Schutz gegen den Angriff von Hylotrupes bajulus besitzt (BECKER 1942 a, 1944 a, 1944 b).

Mit zunehmendem Holzalter[+)] sinkt die Wahrscheinlichkeit eines Befalls beständig ab, fünfzig Jahre oder länger gelagerte Hölzer zeigen praktisch keinen Neubefall mehr (KAUFMANN und SCHUCH 1938, TRÄGARDH 1938, WICHMAND 1941, SCHUCH 1954, KÖRTING 1961, 1962). Die Fraßtätigkeit der Larven beschränkt sich auf die Splintregion, wobei die äußersten, dicht unter der Rinde gelegenen Schichten bevorzugt werden. Die Anzahl der Fraßgänge nimmt von außen nach innen ab, der innere Kernholzteil wird in der Regel nicht angegriffen (BECKER 1942 a, KÖRTING 1965).

Sowohl die mit fortlaufendem Lagerungsalter abnehmende Befallswahrscheinlichkeit, als auch die im Stamm von außen nach innen geringer werdende Fraßtätigkeit lassen in beiden Fällen auf ein Nahrungswertgefälle schliessen. Schon SCHUCH (1937, 1938) konnte zeigen, daß ein solches Gefälle besteht, denn die äußersten Splintregionen seiner Versuchshölzer verursachten das stärkste, die weiter nach innen gelegenen Regionen ein immer schwächer werdendes Wachstum von Hausbocklarven. Er vermutete, daß das frühzeitige Erlöschen

[+)] Mit dem Begriff "Alter" ist künftig immer das Lagerungsalter des Holzes gemeint, also die Zeit nach der Fällung.

eines Hausbockbefalls nicht durch die Tätigkeit von Feinden oder Parasiten hervorgerufen wird, sondern durch bestimmte Holzeigenschaften bedingt ist, daß also das Holz wahrscheinlich nährstoffärmer wird (1939).

Die Klärung der für ein Nahrungswertgefälle verantwortlichen Holzbestandteile setzte die Kenntnis der von den Tieren verwerteten Holzsubstanzen voraus. Noch 1928 (UWAROW) war nicht bekannt, von welchen Stoffen, eventuell abgesehen von der Cellulose, die holzzerstörenden Insekten leben. Erst die Bohrmehlanalysen von FALCK (1930) bewiesen die Fähigkeit der Hausbocklarven, Cellulose abzubauen. Die hierfür notwendige körpereigene Cellulase (Hylotrupes besitzt keine Symbionten) wurde von SCHLOTTKE und BECKER (1942) nachgewiesen. Die Ausnutzung ist jedoch relativ gering, denn der im Holz dominierende Celluloseanteil (ca. 45 % in Nadelholz) wird nur zu 35 % verwertet. Die weiteren Hauptbestandteile wie Hemicellulosen (ca. 30 %) und Lignin (ca. 20 %) werden noch geringer genutzt, von den Hemicellulosen verdauen die Tiere etwa 20 % und vom Lignin gar nur 5 % (SEIFERT 1962).

Die im Holz allgegenwärtigen und zudem nicht optimal verwerteten Stoffgruppen konnten für ein Nahrungswertgefälle nicht verantwortlich sein. SCHUCH (1937) hatte vermutet, daß nicht die Zellwandkomponenten, sondern die Zellinhaltstoffe den entscheidenden Nahrungsfaktor darstellen. TRENDELENBURG (1940) nahm an, daß es sich dabei um Kohlenhydrate wie z. B. Stärke oder bestimmte Zucker handeln müsse. Dies wurde von BECKER (1942 a) widerlegt, denn Zusätze von Stärke oder verschiedenen Zuckern zum Futterholz führten zu keinen, oder nur sehr geringen Wachstumssteigerungen von Hausbocklarven, sehr hohe Konzentrationen verursachten gar eine Gewichtsabnahme der Tiere.

In seinen Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie von Hylotrupes bajulus hat BECKER dann die entscheidende Bedeutung der Holzproteine für dessen Entwicklung nachgewiesen. Diese Stoffgruppe war bis dahin wegen ihres außerordentlich geringen Gehaltes

im Nadelholz nicht beachtet worden. In ersten Versuchen erzielte BECKER (1938) durch künstliche Steigerung des Proteingehaltes der Versuchshölzer mit Zusätzen von Pepton bedeutende Wachstumssteigerungen der Hausbocklarven. Auch GÖSSWALD (1939) erreichte durch Zugabe von Enzymen zum Larvenfutter eine Wachstumsbeschleunigung der Tiere. Tränkung der Holzproben mit verschiedenen Peptonen, Enzymen und Aminosäuren führte stets zu gesteigertem Larvenwachstum, z. T. um das vielfache gegenüber den Kontrolltieren (BECKER 1942 a). Die höchsten Gewichtszunahmen brachten die Zusätze derjenigen Aminosäuren, die - wie inzwischen bekannt (siehe LIPKE und FRAENKEL 1956, HOUSE 1965) - für die Insekten essentiell sind.

Künstliche Erhöhung des Proteinangebotes beschleunigte somit die Entwicklung der Larven. Diese Befunde sind von RASMUSSEN (1956, 1957), TECHNAU und BEHRENZ (1958) und WHITE (1962) bestätigt worden. Umwandlung oder Entfernung der Holzproteine (z. B. geflößtes Holz) dagegen verringerte sehr stark die Entwicklungsmöglichkeiten der Tiere (BECKER 1942 a, KNUDSEN et al. 1968). Zugaben von Protein zu solch entwertetem Holz, wie auch zu dem normalerweise nicht befallenen Kernholz erhöhten wiederum den Nahrungswert und führten zu gesteigertem Hausbocklarvenwachstum (BECKER 1942 a).

Als limitierender Nahrungsfaktor waren die Holzproteine somit nachgewiesen, allerdings nur auf mittelbarem Wege. Der direkte Nachweis, der quantitative Zusammenhang zwischen der Entwicklung der Hausbocklarven und dem nativen Proteingehalt der Holzproben mußte noch erbracht werden. Zur Bestimmung des Protein- und damit des Nahrungswertes des Holzes schienen Stickstoffanalysen vorerst auszureichen. So stellten ANDERSON und PIGMAN 1947, NICKEL 1960, BECKER 1962, 1963 a, 1963 b, POPOVIC 1966, COWLING und MERILL 1966 übereinstimmend ein Absinken des Stickstoffgehaltes im Stammquerschnitt der untersuchten Hölzer von außen nach innen fest, nebenbei gesagt ein Befund, den schon WEIS (1905) erzielt

hatte. MERILL und COWLING (1966) untersuchten darüber hinaus die Ursache für diesen Stickstoffgradienten und fanden, daß die Abnahme des Stickstoffs korreliert ist mit der Abnahme der Anzahl von Holzparenchymzellen. Im noch lebenden Baum sterben die Parenchymzellen mit nach innen fortschreitender Verholzung des Xylems allmählich ab. Die stickstoffhaltigen Plasmasubstanzen trocknen nun nicht - wie bisher angenommen - ein, sondern werden zum großen Teil im Transpirationsstrom weggeschwemmt und wahrscheinlich an Syntheseorten des Baumes wiederverwendet.

In der Annahme, daß im Holz neben den Proteinen keine wesentlichen anderen organischen stickstoffhaltigen Substanzen auftreten, wurden die Stickstoffwerte mit dem empirischen Faktor 6,25 auf Proteinwerte umgerechnet (DÜRR 1957, BLETCHLY et al. 1959, NICKEL 1960, BECKER 1962, 1963 a, 1963 b). Für Kiefernholz ergab sich auf diese Weise ein Proteingehalt von 0,8 - 0,5 % im Stammesäußeren, abfallend zum Stammesinneren bis auf 0,2 %. In linearer Abhängigkeit davon entwickelten sich die Larven von Hylotrupes bajulus (BECKER 1963 b). Durch Extrapolation der Wachstumswerte resultierte eine untere Entwicklungsgrenze von 0,2 % Protein (ebenda), ein Gehalt also, der nur im Kernholz zu finden ist.

Das Nahrungswertgefälle im Stamm von außen nach innen konnte somit durch einen Stickstoff- evtl. Proteingradienten beschrieben werden. Die Faktoren, die das Nahrungswertgefälle zwischen jungen und alten Bauhölzern verursachen, waren weiterhin unbekannt, denn Stickstoffanalysen von altem, verbautem Holz aus dem 18. und 19. Jahrhundert hatten erstaunlicherweise zu Werten geführt, die in der gleichen Größenordnung lagen, wie die von jüngeren Hölzern (BECKER 1962, 1963 a, 1963 b). In derart altes Holz eingesetzte Hausbocklarven konnten sich darin zwar minimal entwickeln, wiesen aber um ein vielfaches geringere Gewichtszunahmen gegenüber den Vergleichstieren in jungem Holz auf (ebenda).

Dies zeigt, daß der Nahrungswert von Hölzern mit hoher Lagerungszeit trotz vergleichbarem Stickstoffgehalt sehr viel niedriger ist,

als des nur kurze Zeit gelagerten Bauholzes. Stickstoffanalysen allein genügen daher nicht zur Bestimmung des Proteingehaltes und damit des Nahrungswertes der Holzproben, wie es somit auch nicht korrekt ist, von Stickstoffwerten auf Proteinwerte zu schliessen.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, die Ursache für das mit fortschreitendem Lagerungsalter auftretende Nahrungswertgefälle mit Hilfe von Stickstoff- sowie qualitativen und quantitativen Proteinbestimmungen aufzuklären. Letzteres ist jedoch mit einigen methodischen Schwierigkeiten verbunden, die sich aus der chemischen Zusammensetzung des Holzes ergeben. Auf diese Problematik soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden, sie wird im Kapitel "MATERIAL und METHODEN" behandelt.

Unter der Voraussetzung, daß die Proteine des Holzes dessen Nahrungswert limitieren, kann anhand der abnehmenden Larvenentwicklung in älteren Hölzern geschlossen werden, daß sie mit zunehmendem Holzalter durch Witterungseinflüsse zersetzt werden. Der Stickstoff muß dann offensichtlich in Verbindungen vorliegen, die für das Wachstum der Tiere ohne Wert sind. Zu untersuchen war, wie der chemische Abbau verläuft, d.h. ob nur der Gesamtgehalt an Protein abnimmt, oder ob auch die Proteinzusammensetzung verändert wird. Sollte sich auch das Spektrum ändern, mußte geklärt werden, ob innerhalb der für die Tiere essentiellen Aminosäuren unterschiedliche Zersetzungsgrade auftreten und damit bestimmte Aminosäuren zu limitierenden Nahrungsfaktoren werden.

Darüber hinaus wurde der quantitative Zusammenhang zwischen der Entwicklung der Hausbocklarven und den verschiedenen Holzaltersstufen innerhalb eines definierten Zeitraumes untersucht und mittels Korrelationsanalysen die Beziehungen zwischen dem Tierwachstum und verschiedenen Faktoren aufgezeigt.

Zusätzlich bestimmt wurden die während der Versuchsdauer von den Larven aufgenommenen Mengen an Futterholz und ausgeschiedenen Mengen an Kot, die, zusammen mit den entsprechenden Stickstoff- und Gesamtaminosäureanalysen, Aussagen über Aufnahme und

Verwertung der Nahrung im allgemeinen und der Holzproteine im speziellen ermöglichten.

Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit galt dem Protein- und Aminosäurehaushalt der Tiere. Hier war vor allem zu klären, ob sich eine unterschiedliche Holznahrung auf Gehalt und Spektrum der freien und gebundenen Aminosäuren der Hausbocklarven auswirken würde. Bisherige Untersuchungen an diversen Insekten über den Einfluß der Nahrung auf die Aminosäuren der Tiere führten zu recht uneinheitlichen Ergebnissen. So konnte AUCLAIR (1959) zeigen, daß unterschiedliche Konzentrationen an Aminosäuren in der Diät die Qualität und Quantität der Hämolymphaminosäuren von Blatella germanica beeinflußten. Ebenso berichtete VILLENEUVE (1962) über Veränderungen im Gehalt einiger Aminosäuren im Blut von Agria affinis, hervorgerufen durch verschiedene Diäten. DURZAN und LOPUSHANSKI (1968) registrierten bei Choristoneura fumiferana auf drei Wirten nicht nur Änderungen innerhalb der freien, sondern sogar der proteingebundenen Aminosäuren, DUCHÂTEAU und FLORKIN (1955) dagegen fanden keine Unterschiede im Aminosäurespektrum von Sphinx ligustri auf verschiedenen Wirtspflanzen. Auch IRREVERRE und LEVENBOOK (1960) sowie SCHAEFER (1964) konnten an Prodenia eridiana bzw. Neodiprion pratti keinen Effekt unterschiedlich zusammengesetzter Diäten bzw. verschiedener Wirte auf die Hämolymphaminosäuren feststellen.

MATERIAL UND METHODEN

1. Beschaffung und Vorbereitung der Versuchshölzer

Zur Durchführung der vorliegenden Versuche wurde Kiefernsplintholz unterschiedlichen Lagerungsalters benötigt. Das Spektrum sollte sich von jungem, nährstoffreichem Holz bis zu einem Holzalter erstrekken, bei dem normalerweise kein Hausbockneubefall mehr auftritt.

Aus den Beständen der Bundesanstalt für Materialprüfung (BAM) standen zwei Altersstufen zur Verfügung, die übrigen Versuchshölzer mußten erst - z. T. aus Privathäusern und unter Schwierigkeiten - beschafft werden. Mit fünf verschiedenen Altersstufen an Kiefernholz[+)] wurden die Versuche durchgeführt.

Aus dem Berliner Grunewald stammten im Herbst 1970 frisch geschnittene Kiefernäste, die bis zum Versuchsbeginn neun Monate lagerten. Aus den Beständen der BAM kamen Hölzer mit einem Lagerungsalter von eineinhalb und achtzehn Jahren. Ca. sechzigjähriges Holz entstammte dem Dachstuhlgebälk einer 1911 erstellten Villa in Berlin-Dahlem. Die Deckenbalken eines 1870 erbauten und 1970 abgerissenen Mietshauses in Berlin-Wedding lieferten das hundert Jahre alte Versuchsholz[++)].

Soweit nötig, wurden die Hölzer ca. 3 - 4 Wochen luftgetrocknet,

[+)] Die Begriffe "Holz" und "Splintholz" werden künftig synonym gebraucht, zu den Versuchen wurde ausschließlich Splintholz verwendet.

[++)] Da die Lagerungszeit der beiden ältesten Versuchshölzer vor Einbau in die Gebäude nicht bekannt war, sind keine exakten Altersangaben möglich. Vereinfachend wird das Alter dieser Hölzer künftig mit sechzig bzw. hundert Jahren angegeben.

entrindet und vom Bast befreit. Um eine frische Oberfläche zu erhalten, wurden vom sechzig- und hundertjährigen Splint jeweils 0,2 cm der äußersten Schicht entfernt. Alle weiterverwendeten Hölzer mußten frei von Rissen, Astlöchern sowie Schimmel- und Fäulebefall sein. Aus der jeweils äußersten Splintregion wurden Klötzchen mit einem einheitlichen Gewicht von 10 ± 0,5 g Frischgewicht geschnitten. Eine Einheitlichkeit auch in der Klötzchengröße war auf Grund des unterschiedlichen Ausgangsmaterials nicht möglich. Die Abmessungen des eineinhalb, achtzehn und hundert Jahre alten Holzes betrugen 2,5 cm (tangential) x 2,0 cm (radial) x 5 cm (achsial), des neun Monate alten 1,5 cm x 2,0 cm x 6 - 7 cm, und des sechzigjährigen Holzes 1,6 cm x 1,6 cm x 9 - 10 cm. Jedes Holzklötzchen erhielt median in Faserrichtung ein Bohrloch von 3 mm Durchmesser und 2,5 - 3 cm Tiefe. Die Holzproben wurden numeriert und im evakuierten Exsikkator über Phosphorpentoxid ca. 4 Wochen bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Parallele Ansätze der beiden ältesten, erwarteterweise proteinärmsten Versuchshölzer wurden zusätzlich mit Pepton getränkt. Dazu wurden die getrockneten Holzklötzchen in eine 1%-ige Peptonlösung (Peptonum sicco e caseino der Fa. Witte) eingetaucht und im Exsikkator ca. 20 min einem Unterdruck von 60 - 160 Torr ausgesetzt. Sie blieben noch weitere 20 min in der Tränklösung, wurden anschließend bei 40 °C getrocknet und bis zur Gewichtskonstanz im evakuierten Exsikkator aufbewahrt. Durch Vergleich der Trockengewichte vor und nach der Tränkung konnte der Peptongehalt der Klötzchen rechnerisch ermittelt werden. Er betrug durchschnittlich 1% vom Trockengewicht.

Sämtliche für die Versuche ausgewählten Holzklötzchen lagerten vor Versuchsbeginn bei einer - auch während der Versuche herrschenden - relativen Luftfeuchtigkeit von 70 - 75%, bis sich nach ca. vier Wochen eine, dieser Luftfeuchte entsprechenden, Holzfeuchte von 12% eingestellt hatte. Höhere Feuchtigkeitsverhältnisse, die für die Tiere zur optimalen Entwicklung günstiger sind (BECKER 1949), mußten wegen der dabei auftretenden Schimmelgefahr vermieden werden.

2. Aufzucht und Auswahl des Tiermaterials

Die Larven von Hylotrupes bajulus L. stammten aus der Zucht der BAM Berlin. Sie hatten sich bei 26°C und 70 - 75 % relativer Luftfeuchte in peptongetränktem Kiefernsplintholz entwickelt. Ausgewählt wurden Tiere von 20 - 50 mg Frischgewicht, da bei Larven mit höherem Gewicht die Gefahr der Verpuppung besteht (ab 80 mg BECKER 1942 a), und Tiergewichte unter 20 mg im Hinblick auf sinnvolle Ausgangsmengen für die späteren Stickstoff-, Protein- und Aminosäurebestimmungen nicht geeignet erschienen. Eine geringere Gewichtsspanne konnte nicht eingehalten werden, da zuwenig Tiermaterial zur Verfügung stand. Aus dem gleichen Grund mußten auch Larven unterschiedlichen Alters herangezogen werden. So war eine unterschiedliche Fraßtätigkeit und eine damit verbundene hohe Streuung der Wachstumswerte zu erwarten. Es wurde daher darauf geachtet, daß wenigstens in allen Versuchsserien gleiche Anzahlen von Tieren derselben Altersstufe angesetzt wurden.

3. Durchführung der Fraßversuche

Die Hausbocklarven wurden aus dem Zuchtholz herausgespalten. Um ein Entleeren des Darmes herbeizuführen, wurden die Larven einzeln drei Tage bei 20°C und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit ohne Nahrung gehalten. Die Faeces wurden zweimal pro Tag entfernt, damit die Larven sie nicht wieder aufnahmen. Anschließend wurden die Tiere gewogen und in die Bohrlöcher der vorbereiteten Holzklötzchen gesetzt. In jedes kam eine einzelne Larve, wobei sorgfältig darauf geachtet wurde, daß die Tiere unverletzt waren. Um das Bohrmehl jeder einzelnen Probe zu erfassen, wurden die Versuchsklötzchen getrennt in offenen Gläschen aufbewahrt. Die Größe einer Versuchsserie betrug zwanzig Holzklötzchen pro Holzalter.

Nach zwölfwöchiger Versuchsdauer wurden die Versuchsklötzchen aufgespalten, die Tiere vorsichtig herausgeholt und das Bohrmehl

sauber aus den Fraßgängen entfernt. Wie zu Versuchsbeginn wurden die Tiere erst nach dreitägigem Hungern gewogen. Hinsichtlich des feinen, nicht charakteristisch geformten Bohrmehls bestand Unklarheit, inwieweit es sich um Kot handelte. Analytische Untersuchungen von SEIFERT (1962) hatten jedoch ergeben, daß auch dieser Anteil aus Kot bestand. Nach Auslesen einiger gröberer Holzfasern wurde daher der gesamte Bohrganginhalt als Kot weiterbehandelt.

Holzrückstände und Bohrmehl wurden - für jedes Versuchsklötz- getrennt - im evakuierten Exsikkator über Phosphorpentoxid bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Durch Subtrahieren des Holzrückstandes vom eingesetzten Holz erhielt man die Gewichtsabnahme des Klötzchens, oder anders ausgedrückt, die von den Larven aufgenommene Menge Futterholz. Der durch Veratmen und durch Umwandlung in körpereigene Stoffe verursachte Substanzverlust ergab sich durch Subtraktion der Kotmenge von der aufgenommenen Menge Futterholz. Daraus konnte der Verdaulichkeitskoeffizient nach TRAGER und HOUSE (1965) berechnet werden:

$$Vk = \frac{\text{Aufgenommenes Futterholz - Ausgeschiedener Kot}}{\text{Aufgenommenes Futterholz}} \times 100$$

Die Holzrückstände wurden, soweit wie möglich, manuell zerkleinert und anschließend zu feinem Holzmehl zermahlen.

Von den angesetzten Versuchstieren überlebten etwa 80 - 90 %, die übrigen hatten sich nicht in das Holz eingebohrt und waren verhungert. Nicht alle überlebenden Larven kamen in die Auswertung. Ein Teil hatte sich während des Versuches aus dem Holz herausgebohrt und somit nicht während der gesamten Versuchsdauer gefressen, einige wenige waren beim Herausspalten verletzt worden.

Aus der Gewichtsdifferenz vor und nach dem Fraßversuch konnte die Gewichtszunahme der Tiere in Prozent des Anfangsgewichtes berechnet werden. Von den Wachstumswerten jeder Versuchsserie wurden die Mittelwerte gebildet und mit dem t-Test statistisch

gegeneinander abgesichert (PÄTAU 1943, SACHS 1968, CAVALLI-SFORZA 1969). Dies erfolgte in gleicher Weise für die Werte der aufgenommenen Futterholzmengen.

Die gewogenen Larven wurden gefriergetrocknet (flüssiger Stickstoff + Vakuum) und im Exsikkator über Phosphorpentoxid aufbewahrt. Für jedes Tier wurde das prozentuale Verhältnis des Trockengewichts zum Frischgewicht bestimmt.

4. Analytische Vorversuche

4.1. Freie Aminosäuren im Holzmaterial

Das Vorkommen freier Aminosäuren in Hölzern war bisher nur mit qualitativen (DIETRICHS 1969) oder unzureichenden quantitativen (HODGES et al. 1968) Bestimmungen nachgewiesen worden. So war auch der Gehalt im Kiefernsplintholz nicht bekannt. Daher sollte erst nach einer quantitativen Bestimmung der freien Aminosäuren entschieden werden, ob bei den Analysen des Holzmaterials freie und gebundene Aminosäuren getrennt, oder nur Gesamtaminosäuren zu untersuchen waren.

Die Extraktion der freien Aminosäuren erfolgte nach dem von DIETRICHS (1969) beschriebenen Verfahren. Zwei Jahre altes Kiefernsplintholz[+)] wurde in Form feinsten Holzmehls zu fünf Proben á 10 g Frischgewicht eingewogen und mit je 100 ml Methanol versetzt. Der Wassergehalt des Alkohols wurde so eingestellt, daß er unter Berücksichtigung der im Holz enthaltenen Wassermenge 20% betrug. Die Wassergehaltsbestimmung des Holzes erfolgte an Parallelproben nach dem Darrverfahren 4 h bei 105 °C. Die Überstände der Ansätze wurden nach dreitägigem Stehen bei 5 °C abgegossen und

[+)] Kam bei sämtlichen analytischen Vorversuchen des Holzmaterials zur Anwendung.

durch die gleiche Menge 80%igen Alkohols ersetzt. Nach dreimaliger Extraktion wurden die vereinigten Überstände am Rotavapor bei 40°C auf 20 ml eingeengt, durch Ausschütteln mit soviel Chloroform, bis die Phasen getrennt waren, von Verunreinigungen befreit und am Rotavapor bei 40°C bis zur Trockne eingeengt. Der in 20 ml H_2O aufgenommene Rückstand kam auf eine Ionenaustauschsäule ($\emptyset$ 20 mm, h 200 mm) mit Dowex 50 WX 8, 100 - 200 mesh, wurde mit 300 ml H_2O nachgewaschen und mit 300 ml NH_4OH von der Säule eluiert. Das Eluat wurde am Rotavapor eingedampft. Zur völligen Entfernung des Ammoniaks wurde der Rückstand zweimal in je 20 ml H_2O aufgenommen und erneut bis zur Trockne eingeengt, dann in 2 ml Na-Citratpuffer p_H 2,2 gelöst. Die quantitative Bestimmung der Aminosäuren erfolgte mit einem aliquoten Teil am Automatischen Aminosäureanalysator (siehe 7. und 8.).

4.2. Untersuchung verschiedener Proteinhydrolysen

Proteingehalt und Proteinspektrum können durch Aufspaltung der Proteine und anschließende quantitative und qualitative Aminosäurebestimmung erfaßt werden (LEGGET-BAILEY 1967, DEVENYJ und GERGELY 1968, u. a.). Meist angewandt wird die salzsaure Proteinhydrolyse. Grundsätzlicher Nachteil dieses Verfahrens ist jedoch eine ungleiche Aminosäureausbeute, denn einige Aminosäuren werden bereits wieder abgebaut, bevor alle Peptidbindungen gespalten sind. So wird Tryptophan unter der Einwirkung von Säuren völlig zerstört, die schwefelhaltigen Aminosäuren wie Methionin und Cystein zum großen Teil, und Asparagin und Glutamin werden in Asparaginsäure bzw. Glutaminsäure umgewandelt. Andererseits können die Werte bestimmter Aminosäuren mit zunehmender Hydrolysezeit ansteigen.

Die salzsaure Hydrolyse der Holzproteine ist mit zusätzlichen Schwierigkeiten verbunden, die sich aus dessen chemischer Zusammensetzung ergeben. Kiefernsplintholz z. B. besteht aus etwa

45 % Cellulose, 30 % Hemicellulosen, 20 % Lignin, geringen Bestandteilen an Lipiden, Mineralien und Gerbstoffen, sowie weniger als 1 % Protein (SERGEJEWA 1959, SEIFERT 1962, BECKER 1963 a). Ein verschwindend geringer Proteinanteil steht somit einem dominierenden Anteil an Kohlenhydraten gegenüber. Die Proteinhydrolyse mit HCL wird jedoch durch Verunreinigungen gestört, ganz besonders durch begleitende Kohlenhydrate, die zur Huminbildung führen und damit die Aminosäureausbeute vermindern (BRENNER et al. 1967, KING und BAILEY 1965, CLELAND und KARLSNES 1967, u. a.). Die Bildung von Huminen erfolgt immer dann, wenn Aminosäuren und reduzierende Zucker zusammen in wäßrigen sauren Lösungen erhitzt werden (siehe GOTTSCHALK 1966) und kann nur durch absolute Reinheit des Proteins verhindert werden. Diese Forderung konnte für das zu untersuchende Holzmaterial nicht eingehalten werden. Ein geeignetes Verfahren zur Trennung der Kohlenhydrate und Proteine im Holz gibt es nicht. Ein solches zu entwickeln, lag auch nicht im Rahmen der hier durchgeführten Untersuchungen. Einige wenige Versuche, das Holzprotein zu extrahieren, blieben erfolglos und wurden eingestellt.

Einen Ausweg konnte die enzymatische Proteinhydrolyse bringen, die weniger anfällig gegenüber störenden Begleitsubstanzen verläuft. Der Aufschluß erfolgt ohne Zerstörung der Aminosäuren, auch Asparagin und Glutamin bleiben in ihrer ursprünglichen Form erhalten. Von Nachteil ist allerdings die ungleichmäßige Abspaltung der Aminosäuren, da - je nach Enzym - bestimmte Peptidbindungen bevorzugt werden (siehe NOMOTO et al. 1960 b). Weitere Mängel sind lange Hydrolysezeiten und die dabei auftretende Gefahr von Bakterienbildung.

Beide Methoden - salzsaure und enzymatische Hydrolyse - wurden an Holz- und auch an Tierproben auf ihre Anwendbarkeit für das vorliegende Versuchsmaterial untersucht.

4.2.1. Enzymatische Hydrolyse

Als proteolytisches Enzym wurde Pronase der Fa. Serva Feinbiochemica verwendet. Diese Protease aus Streptomyces griseus besitzt nach NOMOTO et al. (1960 a) eine außergewöhnlich breite Substratspezifität und hydrolysiert zudem fast sämtliche Peptidbindungen, einschließlich solchen, die spezifisch von den bekannten proteolytischen Enzymen angegriffen werden. Das Ausmaß der Hydrolyse wird gegenüber der salzsauren Hydrolyse mit 70 - 90 % angegeben.

Sämtliche hier durchgeführten Hydrolysen mit Pronase, sowohl an Tier- wie auch an Holzmaterial, liefen ab in 0,2 M Na-Phosphatpuffer p_H 7,8 bei 37°C, in Gegenwart von Äthanol in einer Endkonzentration von 10 % (NOMOTO et al. 1960 a) und 0,0015 M $CaCl_2$ (SPIRO 1965). Variiert wurde einerseits die Hydrolysezeit von 24 bis 96 Stunden, andererseits die Enzymkonzentration von 0,5 - 2,5 % zum eingesetzten Protein. Als Kontrolle dienten Ansätze ohne Enzym. Nach beendeter Hydrolyse wurde das Enzym mit soviel 30%iger TCA gefällt, daß eine TCA-Endkonzentration von 10 % resultierte. Die Proben blieben über Nacht in der Kälte stehen und wurden anschließend zentrifugiert. Die klaren Überstände wurden im Rotavapor bis zur Trockne eingeengt, zweimal in je 5 ml H_2O aufgenommen und erneut abgedampft, in H_2O aufgenommen und quantitativ auf eine Ionenaustauschsäule mit Dowex 50 WX 8, 100 - 200 mesh, überführt, mit H_2O nachgewaschen und mit NH_4OH eluiert. Das Eluat wurde am Rotavapor zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wurde in H_2O aufgenommen, erneut abgedampft, dann in 0,2 M Na-Citratpuffer p_H 2,2 gelöst. Die Puffervolumina wurden so bemessen, daß ein aliquoter Teil von 0,1 ml einen Aminostickstoffanteil von 0,5 - 5 ug enthielt. Das Ausmaß der Hydrolyse wurde durch eine quantitative Aminosäurebestimmung nach YEMM und COCKING (1955) ermittelt.

Danach wurden jeweils 0,1 ml der Aminosäurelösungen mit 0,5 ml 0,2 M Na-Citratpuffer p_H 5, 0,2 ml Methylcellosolve, enthaltend 5 % Ninhydrin, sowie 1,0 ml eines Gemisches von Methylcellosolve - 0,01 M KCN (50 : 1) versetzt, gut gemischt und im Wasserbad von 100°C zur Reaktion gebracht. Nach dem Abkühlen wurden die Extinktionswerte im Spektralphotometer (Zeiss) bei 570 nm gemessen. Als Blindwerte dienten Ansätze, die statt der Aminosäurelösung 0,1 ml Na-Citratpuffer p_H 2,2 enthielten. Die Auswertung erfolgte anhand einer Eichkurve von Leucin.

Von den Proben mit den höchsten Aminosäureausbeuten wurden zusätzliche Bestimmungen am Aminosäureanalysator durchgeführt (siehe 7. und 8.).

4.2.1.1. Tiermaterial

Die Fällung und Reinigung der zu analysierenden Tierproteine erfolgte in Anlehnung an das von SPECK und URICH (1969) beschriebene Trennungsverfahren. Fünf Hausbocklarven á 50 - 100 mg Frischgewicht wurden nach dreitägigem Hungern der Tiere gewogen und gemeinsam in 4 Teilen Methanol homogenisiert. Der abzentrifugierte Rückstand wurde mit 10 ml Chloroform - Methanol (2 : 1) versetzt und erneut zentrifugiert. Das Sediment wurde mit 5 ml Methanol (80 %) gewaschen, zentrifugiert und 5 min in 1 ml 0,5 N $HClO_4$ bei 60°C suspendiert, dann zentrifugiert. Nach zweimaligem Waschen des Rückstandes mit je 5 ml Methanol (70 %) und jeweiligem Zentrifugieren wurde in 20 ml Phosphatpuffer p_H 7,8 aufgenommen. Sämtliche Hydrolyseansätze wurden mit je 1 ml dieses Homogenats durchgeführt, wobei die Endvolumina der Ansätze stets 5 ml betrugen. Hydrolyse und Aminosäurebestimmung erfolgte in der vorher beschriebenen Weise.

4.2.1.2. Holzmaterial

Feingemahlenes Holzmehl des zweijährigen Kiefernsplints wurde nach achtstündiger Extraktion mit Chloroform in Proben von je 3 g der enzymatischen Hydrolyse in der beschriebenen Weise unterworfen. Die Endvolumina der Hydrolyseansätze betrugen stets 50 ml. Bei diesen Proben hatte sich ein unlöslicher Hydrolyserückstand gebildet, der vor der Fällung des Enzyms abfiltriert werden mußte.

4.2.2. Salzsaure Hydrolyse

Die Hydrolyse der Tierproteine konnte ziemlich frei von störenden Begleitsubstanzen ablaufen, während das Holzmaterial lediglich von störenden Lipiden befreit wurde und daher mit einer starken Huminbildung zu rechnen war. Dies kann allerdings durch überschüssige Salzsäure etwas vermindert werden (BRENNER et al. 1967). So wurde die Hydrolyse der Holzproteine mit sehr hohen HCl-Volumina durchgeführt und konnte deshalb aus apparativen Gründen nur am Rückflußkühler, somit unter Luftatmosphäre, stattfinden und nicht unter einer, zu höherer Aminosäureausbeute führenden, evakuierten Stickstoffatmosphäre (MARAVALHAS 1970).

Aus Gründen der Vergleichbarkeit erfolgte die Hydrolyse der Tierproteine ebenfalls am Rückflußkühler.

Die in der Literatur angegebenen Hydrolysezeiten schwanken zwischen 16 und 96 Stunden, meist wird eine Aufschlußzeit von 24 h eingehalten. Da die zu optimaler Hydrolyseausbeute führende Hydrolysezeit jedoch stark von den Versuchsbedingungen wie z. B. Verunreinigungen abhängt, mußte sie daher für das unterschiedliche Tier- und Holzmaterial vorab ermittelt werden.

4.2.2.1. Tiermaterial

Fünf Hausbocklarven á 50 - 100 mg Frischgewicht wurden nach dreitägigem Hungern der Tiere aufgearbeitet. Die Fällung und Reinigung des Proteins erfolgte wie in 4.2.1.1. beschrieben. 8 Proben á 0,5 ml Proteinhomogenat wurden mit je 25 ml 6 N HCl versetzt. Je 2 Ansätze hatten eine Hydrolysedauer von 12 h, bzw. 24 h, bzw. 48 h, bzw. 72 h. Das klare Hydrolysat jeder Probe wurde am Rotavapor bei 40°C bis zur Trockne eingeengt und durch wiederholte Zugabe von H_2O und erneutem Abdampfen von der restlichen Salzsäure befreit. Der Rückstand wurde in 5 ml H_2O aufgenommen und mit weiteren 5 ml H_2O quantitativ auf eine Ionenaustauschsäule ($\emptyset$ 9 mm, h 120 mm) mit Dowex 50 WX 8, 100 - 200 mesh, gebracht, mit 20 ml H_2O nachgewaschen und mit 30 ml NH_4OH eluiert. Das Ammoniak wurde am Rotavapor bei 40°C abgedampft, der Rückstand mit 10 ml H_2O aufgenommen und erneut zur Trockne eingeengt, dann in 2 ml Na-Citratpuffer p_H 2,2 gelöst. Die quantitative und qualitative Bestimmung der Aminosäuren erfolgte am Aminosäureanalysator (siehe 7. und 8.).

4.2.2.2. Holzmaterial

8 Proben á 3 g zweijährigen Kiefernsplintholzmehls wurden 8 h mit Chloroform am Soxhlet extrahiert und nach dem Trocknen mit je 100 ml 6 N HCl versetzt. Je 2 Ansätze wurden 12 h, bzw. 24 h, bzw. 48 h, bzw. 72 h am Rückflußkühler bei 105°C hydrolysiert. Das schwarzbraune, trübe Hydrolysat wurde durch ein Blaubandfilter (Fa. Schleicher und Schüll) filtriert, der im Filter verbliebene Rückstand dreimal mit je 100 ml H_2O nachgewaschen und das mit dem Waschwasser vereinigte Filtrat am Rotavapor bei 40°C eingedampft. Die im Rückstand noch vorhandene Salzsäure mußte durch wiederholte Zugabe von H_2O und jeweiligem Abdampfen

entfernt werden. Der in 10 ml H_2O aufgenommene Rückstand kam auf eine Ionenaustauschsäule (ϕ 20 mm, h 200 mm) mit Dowex 50 WX 8, 100 - 200 mesh. Nach Waschen der Säule mit 300 ml H_2O wurden die Aminosäuren mit 350 ml NH_4OH eluiert, das Eluat am Rotavapor zur Trockne eingeengt, der Rückstand in je 20 ml H_2O aufgenommen und erneut abgedampft, dann in 5 ml Na-Citratpuffer p_H 2,2 gelöst. Ein unlöslicher Rest wurde durch Zentrifugieren entfernt, der klare Überstand für die Aminosäurebestimmung verwendet. Die Hydrolyseausbeute wurde durch quantitative und qualitative Bestimmung der Aminosäuren am Automatischen Aminosäureanalysator erfaßt (siehe 7. und 8.).

4.3. Aminosäureverluste bei der HCl-Hydrolyse der Holzproteine

4.3.1. Zerstörungsgrad der Aminosäuren

Die Bestimmung des Zerstörungsgrades der Aminosäuren verlief folgendermaßen: 10 Ansätze á 3 g zweijährigen Kiefernholzmehls wurden 8 h am Soxhlet mit Chloroform extrahiert und getrocknet. Die Bestimmung des Wassergehaltes der Holzproben erfolgte an Parallelproben nach dem Darr-Verfahren (4 h, 105°C). 5 Proben erhielten je 1 ml eines pro Aminosäure 25 µMol enthaltenden Gemisches der folgenden Aminosäuren: ASP, THR, SER, GLU, PRO, GLY, ALA, CYS, VAL, MET, LEU, ILE, TYR, PHE, HIS, LYS, ARG. Alle 10 Proben wurden mit je 100 ml 6 N HCl versetzt und 48 h bei 105°C am Rückflußkühler hydrolysiert (siehe Ergebnisse der Vorversuche 1.2.2.). Die weitere Aufarbeitung der Ansätze erfolgte wie in 4.2.2.2. beschrieben.

Die Subtraktion des jeweiligen Aminosäurewertes (µMol) der unbehandelten Holzprobe vom entsprechenden Aminosäurewert der behandelten Holzprobe ergab den unzerstörten Gehalt in µMol der zugefügten Aminosäure. Bezogen auf die eingesetzten µMole, konnte der jeweilige Zerstörungsgrad berechnet werden.

4.3.2. Stickstoffgehalt im Hydrolyserückstand

Der im Huminrückstand des Hydrolysats verbliebene Aminosäuregehalt konnte nur mittels einer Stickstoffbestimmung nach dem Kjeldahl-Verfahren (KJELDAHL 1883) erfaßt werden. Über den Kjeldahl-Aufschluß bestehen eine Vielzahl von Untersuchungen und Veröffentlichungen, die sich sowohl auf die Aufschlußtechnik, als auch auf die apparativen Einrichtungen zur Bestimmung des Ammoniaks beziehen. Auf nur einige wenige sei hier verwiesen: BOUMAN 1949, FRESENIUS 1938, JANY et al. 1938, PARNAS 1938, RAUEN et al. 1948 (dort weitere Literaturhinweise), SREENIVASAN et al. 1938. Bei den hier beschriebenen Untersuchungen wurde wie folgt verfahren: Zweijähriges Kiefernsplintholzmehl wurde zu 5 Proben á 3 g eingewogen, dann nach achtstündiger Extraktion mit Chloroform und anschließender Trocknung (48 h bei 105°C) mit 6 N HCl hydrolysiert. Der Wassergehalt des Holzes wurde an Parallelproben nach dem Darr-Verfahren (4 h bei 105°C) bestimmt. Das erkaltete Hydrolysat lief durch ein Blaubandfilter (Fa. Schleicher und Schüll). Der im Filter verbliebene schwarzbraune Rückstand wurde dreimal mit je 100 ml H_2O nachgewaschen. Nach 24-stündigem Trocknen kamen Filter samt Rückstand in einen Kjeldahl-Kolben und wurden mit 25 ml H_2SO_4 p. a. konz. und 6 g Selenreaktionsgemisch (WIENINGER 1936) aufgeschlossen. Zwei zusätzliche Ansätze enthielten jeweils ein dreimal mit je 100 ml H_2O gewaschenes Papierfilter. Die Proben wurden erst schwach, dann stärker erhitzt, bis die Flüssigkeit eine klare, grüne Farbe zeigte, danach noch 5 min auf schwacher Flamme gehalten. Der abgekühlte Kolbeninhalt wurde mit 150 ml H_2O verdünnt, quantitativ in den Destillierkolben einer Wasserdampfdestillationsapparatur (Fa. Büchi) überführt und mit 150 ml 32 %iger NaOH versetzt. Das durch Wasserdampf ausgetriebene Ammoniak wurde nach der Kondensation im Kühler in einer Vorlage mit 30 ml 3 %iger Borsäure

und 10 Tropfen Tashiro-Indikator (100 ml 0,03%ige alkoholische Methylrotlösung versetzt mit 15 ml 0,1%iger wäßriger Methylenblaulösung, KOLTHOFF 1931) aufgefangen. Nach 15-minütiger Destillation wurde das nun als Ammoniumborat vorliegende Ammoniak (grüne Farbe) mit n/100 H_2SO_4 bis zum ersten Auftreten eines rötlichen Farbtons titriert (BRECHER 1936). Die Berechnung des Stickstoffgehaltes der Probe erfolgte anhand der verbrauchten Menge Schwefelsäure (1 ml n/100 H_2SO_4 entspricht 140 µg Stickstoff). Parallel dazu wurde der Stickstoffgehalt von unhydrolysierten Holzproben (3 g) in der eben beschriebenen Weise bestimmt und der im Hydrolyserückstand verbliebene Anteil errechnet.

5. Analysen des Tiermaterials

Die in Form von gefriergetrocknetem Material vorliegenden Hausbocklarven wurden auf ihren Gesamtstickstoffgehalt, sowie auf Gehalt und Spektrum von unlöslichem Protein und freiem Aminosäurepool untersucht. Pro Versuchsserie, d.h. pro Holzalter wurden 5 - 7 Tiere analysiert.

In Anlehnung an den von SPECK und URICH (1969) entwickelten Trennungsgang erfolgte die Aufarbeitung der Versuchstiere mit einer verbesserten Extraktion der freien Aminosäuren nach THORP (1970) nach folgendem Schema:

Ganzes Tier
+ 0,5 ml H_2O homogenisieren
↓
auffüllen ad 5 ml
wäßrigen Homogenats ⟶ 0,5 ml für Gesamtstickstoff
↓
Resthomogenat
+ 18 ml Methanol
↓

zentrifugieren → Überstand 1

↓

Sediment + 3 ml
Chloroform - Methanol (2 : 1)

↓

zentrifugieren → Überstand 2

↓

Sediment + 3 ml
Aceton - 6 N HCl (10 : 1)
(Extraktion 10 min)

↓

zentrifugieren → Überstand 3

↓

Sediment + 3 ml
Methanol (80 %)

} freie Aminosäuren

↓

zentrifugieren

↓

waschen mit Methanol
wiederholen → Überstände 4, 5

↓

zentrifugieren

↓

Sediment + 1 ml 0,5 N $HClO_4$, 5 min, 60 °C

↓

zentrifugieren

↓

Sediment + 3 ml Methanol (70 %)

↓

zentrifugieren

↓

waschen mit Methanol wiederholen

↓

zentrifugieren

↓

Sediment + H_2O ad 5 ml
Homogenat → 1 ml Tryptophanbestimmung
→ 4 ml Proteinhydrolyse

Sämtliche Zentrifugationen wurden 20 min bei 5 000 g durchgeführt.

5.1. Bestimmung des Gesamtstickstoffs

Die Stickstoffbestimmung des Tiermaterials erfolgte nach dem schon in 4.3.2. beschriebenen Kjeldahl-Verfahren. Je 0,5 ml wäßriges Tierhomogenat wurde zusammen mit einer Spatelspitze Selenreaktionsgemisch und 2 ml konzentrierter H_2SO_4 p.a. in einem Kjeldahl-Kolben durch erst schwaches, dann stärkeres Erhitzen aufgeschlossen. Zeigte die Flüssigkeit eine klare, grüne Farbe, wurde noch weitere 5 min schwach erwärmt. Nach dem Erkalten wurde mit 10 ml H_2O verdünnt, der abgekühlte Kolbeninhalt mit 15 ml 32 %iger NaOH unterschichtet und der Kolben sofort an eine Wasserdampfdestillationsapparatur angeschlossen. Zusammen mit dem Wasserdampf wurde das freigesetzte Ammoniak überdestilliert, in einem Kühler kondensiert und in einer Vorlage, die 20 ml 2 %ige Borsäure plus 10 Tropfen Tashiro-Indikator (siehe 4.3.2.) enthielt, aufgefangen. Nach 6 min war die Destillation beendet. Das grüne Ammoniumborat wurde bis zum Auftreten eines rötlichen Farbtons mit n/200 H_2SO_4 titriert. Die Berechnung des Stickstoffgehalts erfolgte anhand des verbrauchten Schwefelsäurevolumens (1 ml n/200 H_2SO_4 entspricht 70 µg Stickstoff).

5.2. Bestimmung der freien Aminosäuren

Die von der Aufarbeitung des Tiermaterials stammenden Überstände 3, 4 und 5 wurden im Rotavapor bei 40°C zur Trockne eingeengt, der Rückstand zweimal in je 5 ml H_2O gelöst und wieder eingedampft, anschließend in 5 ml H_2O aufgenommen und mit den Überständen 1 und 2 vereinigt. 20 ml Chloroform und soviel H_2O, bis die Phasen getrennt waren, kamen hinzu, anschließend wurde zentrifugiert. Die obrige, wäßrige Phase wurde im Rotavapor bei 40°C eingedampft, der Rückstand in 5 ml H_2O aufgenommen

und mit weiteren 5 ml H_2O quantitativ auf eine Ionenaustauschsäule (ϕ 9 mm, h 120 mm) mit Dowex 50 WX 8, 100 - 200 mesh, überführt, mit 20 ml H_2O nachgewaschen und mit 30 ml 2 N NH_4OH von der Säule eluiert. Das Eluat wurde im Rotavapor bei 40°C bis zur Trockne eingeengt, mit 10 ml H_2O aufgenommen, erneut abgedampft und anschließend in 1,1 ml Na-Citratpuffer p_H 2,2 - 0,1 N HCl (1 :3) gelöst. Die quantitative Bestimmung der Aminosäuren erfolgte am Aminosäureanalysator (siehe 7. und 8.).

5.3. Bestimmung der proteingebundenen Aminosäuren

Das gereinigte wäßrige Proteinhomogenat wurde mit 7 ml 32 %iger HCl versetzt und mit zusätzlich 20 ml 6 N HCl bei 105°C für 24 h am Rückflußkühler hydrolysiert. Die weitere Aufarbeitung der Proben erfolgte wie in 4.2.2.1. beschrieben. Die in 1,5 ml 0,2 N Na-Citratpuffer - 0,1 N HCl (1 : 3) gelösten Aminosäuren wurden wiederum auf dem Automatischen Aminosäureanalysator bestimmt (siehe 7. und 8.). Die Hydrolyseverluste von Threonin, Serin und Tyrosin wurden berücksichtigt durch Korrektur der Werte um jeweils 5 bzw. 10 bzw. 5 % (siehe HIRS et al. 1954).

Da Tryptophan bei der salzsauren Hydrolyse vollständig zerstört wird und auf diese essentielle Aminosäure nicht verzichtet werden sollte, mußte eine getrennte Bestimmung durchgeführt werden. Dies geschah nach der Methode von SPILS und CHAMBERS (1949). Dazu wurde 1 ml des gereinigten Proteinhomogenats mit 8 ml 64 %iger H_2SO_4 versetzt und gekühlt, dann mit 1 ml p-Dimethylaminobenzaldehyd gemischt und 8 h bei 25°C inkubiert. Nach dieser Zeit hatte sich sämtliches Protein gelöst. Die Proben wurden mit je 0,1 ml frischangesetzter 0,1 %iger $NaNO_2$-Lösung versetzt und nach 30 min bei 619 nm photometriert. Der Blindwert enthielt statt des Proteinhomogenats 1 ml H_2O. Die Auswertung erfolgte anhand einer Eichkurve.

Sowohl bei den proteingebundenen wie auch freien Aminosäuren wurden die Werte innerhalb der Versuchsserien gemittelt und die

resultierenden Spektren durch Varianzanalysen (SACHS 1968, CAVALLI-SFORZA 1969) auf Homo- oder Heterogenität geprüft.

6. Analysen von Holz und Bohrmehl

Von diesem Versuchsmaterial wurde der Gesamtstickstoff- und Proteingehalt sowie die Gesamtaminosäurezusammensetzung (siehe Ergebnisse der Vorversuche 1.1.) ermittelt, dabei wurde mit gepooltem Material gearbeitet. Pro Versuchsserie wurden Holzrückstände bzw. Bohrmehl derjenigen Hausbocklarven gepoolt, an denen die in 5. beschriebenen Analysen durchgeführt wurden. Von sämtlichen Ansätzen wurde an Parallelproben der Wassergehalt nach dem Darrverfahren bestimmt und beim Einwiegen der Analysenproben berücksichtigt.

6.1. Bestimmung des Gesamtstickstoffs

Nach dem Kjeldahl-Verfahren wurden jeweils zwei Parallelbestimmungen durchgeführt, bei Nichtübereinstimmung der Werte erfolgte eine dritte Bestimmung. Je 200 mg des unbehandelten Versuchsholzes bzw. des entsprechenden Bohrmehls, oder je 100 mg des peptongetränkten Holzes bzw. des entsprechenden Bohrmehls wurden in Kjeldahl-Kolben eingewogen. Aufschluß, Destillation, Titration und Berechnung erfolgten wie in 5.1. beschrieben.

6.2. Bestimmung der Gesamtaminosäuren

Pro Versuchsserie wurden 3 Bestimmungen durchgeführt. Jeweils 3 g des Holzes bzw. je 2 g des entsprechenden Bohrmehls wurden 8 h mit Chloroform extrahiert, dann mit je 100 ml 6 N HCl bei 105°C für 48 h (siehe Ergebnisse der Vorversuche 1.2.2.) hydrolysiert. Die weitere Aufarbeitung der Proben und Bestimmung der Aminosäuren erfolgte nach dem in 4.2.2.2. beschriebenen

Verfahren. Die pro Versuchsserie gemittelten Aminosäurewerte wurden mit dem jeweiligen Zerstörungsgrad korrigiert. Der resultierende Gesamtaminosäuregehalt erhielt durch den im Hydrolyserückstand ermittelten Aminostickstoffanteil eine weitere Korrektur (siehe Ergebnisse der Vorversuche 1.5.).

Die Aminosäurespektren der verschiedenen Holzaltersstufen wurden durch Varianzanalysen (SACHS 1968, CAVALLI-SFORZA 1969) auf Unterschiede in der Zusammensetzung geprüft (siehe 5.3.).

Durch Subtraktion der Aminosäurewerte des unbehandelten Holzes von denen des gleich alten peptongetränkten Holzmaterials ergab sich das Aminosäurespektrum des verwendeten Peptons. Zu den von der Fa. Witte angegebenen, prozentualen Anteilen 8 essentieller Aminosäuren zeigte sich eine hohe Übereinstimmung. Daher wurde auf eine direkte Bestimmung des Aminosäurespektrums des Peptons verzichtet.

7. Aminosäurebestimmung am Aminosäureanalysator

Die Aminosäurebestimmungen sämtlicher Proben erfolgten mit Hilfe eines Automatischen Aminosäureanalysators. Bei den analytischen Vorversuchen kam der Typ BC 200 der Firma Biocal, sonst ein Beckman-Multichrom zur Anwendung.

Im Prinzip der Aminosäuretrennung und der quantitativen Bestimmung unterscheiden sich die Geräte nicht, unterschiedlich ist die technische Verwirklichung des Verfahrens. Der Ablauf des angewandten, 200 min dauernden Einsäulenverfahrens wird für das Beckman-Multichrom beschrieben: Die in 0,2 N Na-Citratpuffer - 0,1 N HCl (1 : 3) gelösten Proben wurden auf die Säule (ϕ 9 mm, h 550 mm, 55°C) gebracht. Das Pufferprogramm lief in folgender Reihenfolge ab: a) Na-Citratpuffer p_H 3,22, 0,2 N; b) Na-Citratpuffer p_H 4,25, 0,2 N; c) Na-Citratpuffer p_H 6,28, 0,8 N (Zusammensetzung der Puffer nach Angaben im Manual zum Gerät). Als Waschnatronlauge diente eine 0,2 N Lösung. Die quantitative Bestimmung der eluierten Aminosäuren

erfolgte durch Reaktion mit dem Ninhydrinreagenz bei 100°C und anschließende photometrische Messung bei 570 bzw. 440 nm. Die Extinktionswerte wurden über einen Schreiber auf halblogarithmisches Papier punktweise in Form von Peaks ausgedruckt (Abb. 1).

8. Auswertung der Chromatogramme

Die Identifizierung der Aminosäurepeaks erfolgte durch Vergleich der Probenchromatogramme mit dem bei gleichen Versuchsbedingungen erhaltenen Chromatogramm eines Standardgemisches genau bekannter Zusammensetzung.

Die Quantität jeder Aminosäure berechnet sich nach:

$$\mu\text{Mol Aminosäure} = \frac{\text{Nettohöhe x Punktzahl über Halbierungslinie}}{C_{Mol}}$$

wobei C_{Mol} den Molaren Extinktionswert der jeweiligen Aminosäure für dieses Gerät darstellt.

Die Berechnung der Aminosäurewerte erfolgte mit Hilfe eines eigens dafür angefertigten Rechenprogrammes in FORTRAN IV für einen Computer der Fa. CDC, Typ CYBER 72 am Rechenzentrum der FU Berlin. Der Ausdruck des Computers (Abb. 2) beinhaltet sämtliche geforderten Daten.

9. Allgemeine Anmerkungen

Die verwendeten Chemikalien stammten - wenn nicht anders aufgeführt - von der Fa. Merck und waren stets pro analysi.

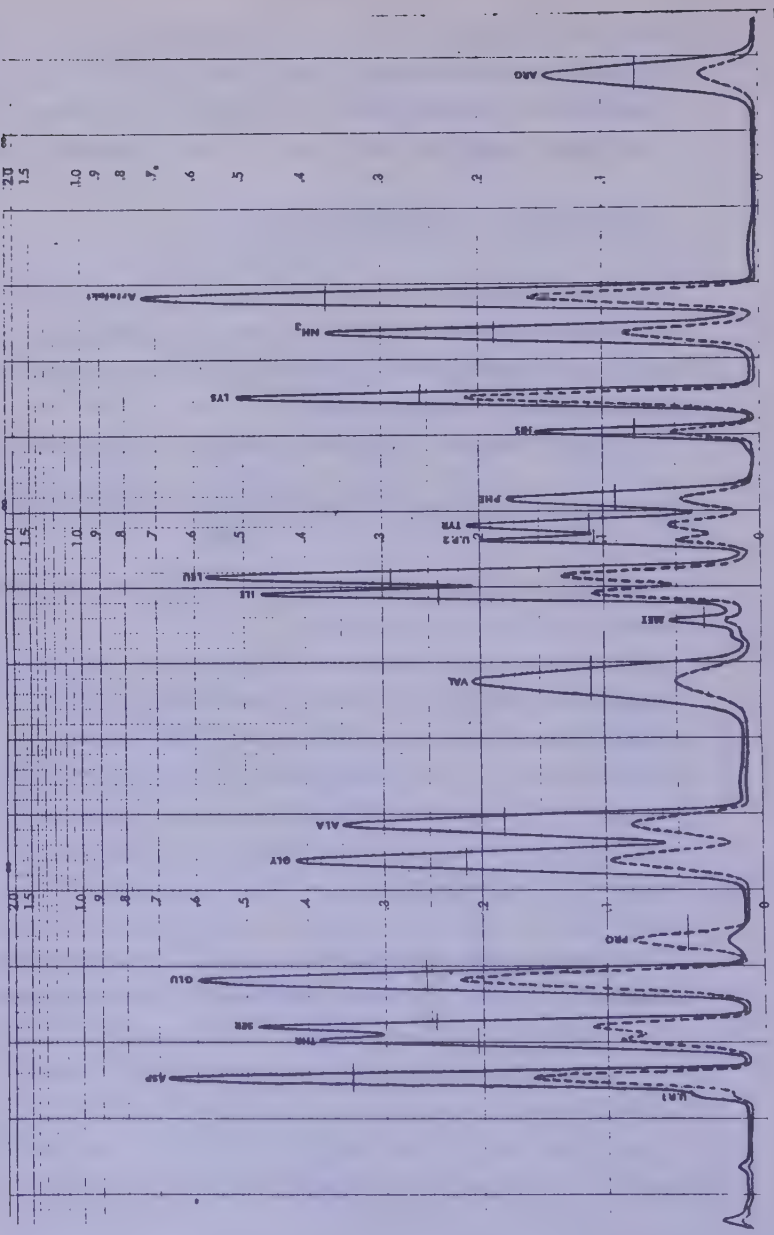


Abb. 1 Exemplarisches Chromatogramm des Einsäulenverfahrens auf dem Automatischen Aminosäureanalysator Beckman Multichrom. (Beispiel einer Holzanalyse.)

Abb. 2 : Exemplarischer Computerausdruck zur Auswertung der Chromatogramme des Automatischen Aminosäureanalysators

Probe Nr.: VIER EINS B HAUSBOCK

	I	NH	PZ	EW	EWM	EWPRO	EWMPRO	EW/FG	EWM/FG	EW/TG	EWM/TG
U.P.	4	.046	25	.1065	.0133	.69	.71	.0023363	.0003061	.0078457	.0010278
Asp	5	.600	27	1.5831	.2105	10.25	10.78	.0347346	.0046197	.1166418	.0155134
Thr	6	.355	27	.8239	.0983	5.34	5.02	.0180781	.0021513	.0607077	.0072242
Ser	7	.495	25	1.0887	.1143	7.05	5.85	.0238878	.0025082	.0802173	.0084228
Glu	10	.535	36	1.8882	.2775	12.23	14.21	.0414305	.0060903	.1391273	.0204517
Pro	11	.080	33	1.1092	.1275	7.19	6.53	.0243383	.0027989	.0817303	.0093930
Gly	13	.485	34	1.4381	.1071	9.32	5.52	.0315535	.0023665	.1059594	.0079470
Ala	14	.380	39	1.0870	.0967	7.04	4.95	.0238512	.0021228	.0800944	.0071284
Val	18	.195	62	1.0103	.1182	6.54	6.05	.0221675	.0025936	.0744405	.0087095
Met	20	.015	21	.0277	.0041	.18	.21	.0006081	.0000906	.0020419	.0003042
Ile	21	.535	25	1.1975	.1563	7.76	8.03	.0262805	.0034427	.0882524	.0115611
Leu	22	.535	25	1.1767	.1541	7.62	7.89	.0258181	.0033822	.0866995	.0113576
U.P.	23	.012	27	.0300	.0054	.19	.27	.0006582	.0001178	.0022104	.0003957
Tyr	25	.200	32	.5944	.1075	3.85	5.51	.0130425	.0023607	.0437981	.0079274
Phe	26	.160	36	.5301	.0875	3.43	4.48	.0116303	.0019190	.0390555	.0064442
His	34	.145	23	.2764	.0423	1.79	2.19	.0060642	.0009399	.0203641	.0031564
Lys	35	.340	31	.8953	.1303	5.80	6.69	.0196540	.0028695	.0659999	.0096360
Arg	40	.090	72	.5735	.0998	3.71	5.11	.0125823	.0021893	.0422525	.0073519
SUMME				15.4373	1.9533	100.00	100.00	.3387160	.0428691	1.1374388	.1439583

FG= 45.5750 TG= 13.5720 M= 3.0000 GAMMA= 1.000

IER= 0 VIER EINS B HAUSBOCK

NH = Nettohöhe des Aminosäurepeaks (Extinktionswert)

PZ = Punktzahl über halber Nettohöhe

EW = Einzelwert in uMol

EWM = Einzelwert in mg

EWPRO = Prozenzualer Anteil des Einzelwertes (uMol) am Gesamtprotein (uMol)

EWMPRO = Prozentualer Anteil des Einzelwertes (mg) am Gesamtprotein

EW/FG = Einzelwert in uMol/mg Frischgewicht

EWM/FG = " in mg/mg Frischgewicht

EW/TG = " in uMol/mg Trockengewicht

EWM/TG = " in mg/mg Trockengewicht

FG = FRISCHGEWICHT der Larve in mg

TG = TROCKENGEWICHT der Larve in mg

M und GAMMA sind Verdünnungs- bzw. Gerätefaktoren

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

1. Vorversuche

1.1. Freie Aminosäuren im Holzmaterial

Die 5 parallelen Bestimmungen ergaben einen Mittelwert von insgesamt 28,6 µg freie Aminosäuren/g Holz, entsprechend einem Aminostickstoffgehalt von 2,5 µg. Der an Parallelproben ermittelte Gesamtstickstoffgehalt betrug 740 µg/g Holz, der Aminostickstoffanteil somit 0,35 %. Auch unter der Voraussetzung, daß nur etwa 50 % des gesamten Stickstoffs als Proteinstickstoff vorliegen, würde der Anteil der freien Aminosäuren nicht mehr als 0,7 % zum Gesamtprotein betragen. Dieser äußerst geringe Prozentsatz ließ für die vorliegenden Fragestellungen eine getrennte Untersuchung von freien und gebundenen Aminosäuren nicht notwendig und sinnvoll erscheinen. So wurde bei sämtlichen Analysen des Holzmaterials Gesamtaminosäuren bestimmt[+)].

1.2. Aminosäureausbeute der salzsauren Proteinhydrolyse

Es zeigte sich, daß die zu optimaler Aminosäureausbeute führende Hydrolysezeit für Tier- und Holzprotein unterschiedlich ist (Tab. 1).

[+)] Die Begriffe "Gesamtaminosäuren" und "Proteine" werden daher künftig für das Holzmaterial synonym verwendet.

Tab. 1 Aminosäureausbeute der salzsauren Proteinhydrolyse nach verschiedenen Hydrolysezeiten

Probe	Hydrolysezeit [h] 12	24	48	72
Tierprotein µMol/mg Tier	0,87	1,25	1,02	0,90
Holzprotein nMol/mg Holz	1,01	1,20	1,49	1,32

1.2.1. Tiermaterial

Die bestmögliche Hydrolyseausbeute der Tierproteine wurde mit insgesamt 1,25 µMol Aminosäuren/mg Tier nach 24-stündigem Aufschluß erzielt (Tab. 1). Nach dieser Zeit hatten sämtliche Aminosäuren ihren höchsten Wert erreicht, der dann mit zunehmender Hydrolysedauer bei einigen relativ konstant blieb, bei den meisten jedoch, allerdings in unterschiedlichem Maße, wieder absank.

1.2.2. Holzmaterial

Der salzsaure Aufschluß der Holzproteine führte erst nach einer Versuchsdauer von 48 h zur größtmöglichen Gesamtaminosäureausbeute von 1,49 nMol/mg Holz. Alle Aminosäuren, mit Ausnahme der basischen, wiesen dann ihre höchsten Aufschlußwerte auf, die Werte von Lysin, Histidin und Arginin dagegen waren nach 72-stündiger Hydrolyse geringfügig höher.

Die höhere Hydrolysezeit der Holzproteine ist erklärlich durch durch die ungünstigeren Versuchsbedingungen. Zum einen liegen diese Proteine nicht in gereinigter Form vor, sondern sind im Gegenteil assoziiert mit dominierenden Anteilen von Cellulose,

Hemicellulosen und Lignin, die den Angriff der Salzsäure beeinträchtigen und damit die proteolytische Aufspaltung verzögern. Erschwerend kommt hinzu, daß darüber hinaus bestimmte Holzproteine in chemisch gebundener Form auftreten, wie z.B. die Wandproteine, die einen beachtlichen Anteil am Gesamtaminosäuregehalt verholzten Gewebes einnehmen (LÜDTKE und LIEFLÄNDER 1970, MERILL und COWLING 1966). Als Bestandteile der pflanzlichen Zellwand sind Proteine erst in jüngster Zeit nachgewiesen worden, wobei sie nicht nur in den Primärwänden (LAMPORT und NORTHCOTE 1960, KIVILAAN et al. 1961, KING und BAILEY 1965, THOMPSON und PRESTON 1968, u.a.), sondern auch in den lignifizierten Sekundärwänden (LÜDTKE und LERCH 1968) zu finden sind.

1.3. Aminosäureausbeute der enzymatischen Proteinhydrolyse

1.3.1. Tiermaterial

Bei der enzymatischen Hydrolyse der Tierproteine führten Versuchsbedingungen von 60 h Hydrolysedauer und Enzymkonzentrationen von 1,5 % zum aufzuschließenden Protein zur höchstmöglichen Gesamtaminosäureausbeute von 0,65 µMol/mg Tier, bzw. 0,58 µMol bei dem Tiermaterial, an dem parallel der salzsaure Aufschluß untersucht wurde. Wie bei NOMOTO et al. (1960 a) konnten längere Hydrolysezeiten und höhere Enzymkonzentrationen die Ausbeute nicht mehr steigern.

1.3.2. Holzmaterial

Die enzymatische Hydrolyse der Holzproteine dagegen führte unter sämtlichen Versuchsbedingungen nur zu Aminosäurewerten, die nicht über denen der Kontrolle lagen, d.h. es hatte überhaupt keine Hydrolyse stattgefunden. Dieser Befund entspricht den

Ergebnissen von MERILL und COWLING (1966), die bei ihren Untersuchungen an Espenholzmehl ebenfalls keine hydrolytische Proteinspaltung durch Pronase erzielen konnten. Die geringen Extinktionswerte der Proben sind offensichtlich auf eine gewisse Extraktion von freien Aminosäuren, möglicherweise löslichen Proteinen, und nicht auf eine proteolytische Spaltung zurückzuführen, da auch die Kontrollen ohne Enzymzusatz positiv auf Ninhydrin reagierten. Sehr wahrscheinlich verhindert das dichte Cellulose- und Ligningerüst der Zellwände ein Eindringen des Enzyms in das zu hydrolysierende Material. Ein enzymatischer Aufschluß der Holzproteine ist somit wohl erst nach vorheriger Entfernung dieser Holzkomponenten möglich.

1.4. Vergleich der beiden Hydrolyseverfahren

Werden an parallelen Tierproben beide Hydrolyseverfahren unter "optimalen" Versuchsbedingungen angewandt, resultiert bei der salzsauren Proteinhydrolyse eine Aminosäureausbeute von 1,25 µMol/mg Tier, beim enzymatischen Aufschluß dagegen ein Wert von 0,58 µMol/mg Tier, d.h. die enzymatische Spaltung liefert nur knapp 50 % der HCl-Hydrolyse. Dies steht im Einklang mit den Befunden von SPIRO (1965), der mit Pronase auch nur 45 % der Peptidbindungen von Thyroglobulin spalten konnte. Beide Ergebnisse differieren mit den Aussagen von NOMOTO et al. (1960 a), die das Ausmaß der enzymatischen Hydrolyse mit Pronase, durchgeführt an Casein und Albumin, mit 70 - 90 % gegenüber der salzsauren Hydrolyse angeben.

Der enzymatische Aufschluß der Tierproteine führte bei sämtlichen Aminosäuren, ausgenommen Methionin, zu niedrigeren Ausbeuten. Besonders hohe Unterschiede fanden sich bei Asparaginsäure und Glutaminsäure, geringere bei Threonin, Serin, Prolin, Glycin, Alanin und Arginin. Bei den übrigen Aminosäuren lagen

lagen die Werte nur knapp unter denen der salzsauren Hydrolyse. Dementsprechend resultierten auch zwei völlig differierende Aminosäurespektren.

Bei der Hydrolyse der Holzproteine erwies sich das Enzym als völlig ineffektiv, da überhaupt keine proteolytische Spaltung stattgefunden hatte. Eine Alternative zum salzsauren Proteinaufschluß, besonders des Holzmaterials, hatte sich mit der enzymatischen Hydrolyse somit nicht ergeben.

Daher wurde für die Hauptanalysen des Holz- und auch Tiermaterials die Säurehydrolyse angewandt und der speziell bei den Holzproben durch Huminbildung und Zerstörung auftretende hohe Aminosäureverlust gesondert ermittelt.

1.5. Aminosäureverluste bei der HCl-Hydrolyse der Holzproteine

1.5.1. Zerstörungsgrad der Aminosäuren

Der Zerstörungsgrad der hydrolysierten Holzaminosäuren konnte nur indirekt bestimmt werden, indem die Hydrolyseverluste von zugesetzten Aminosäuren ermittelt und auf die Holzaminosäuren übertragen, d.h. als Korrekturfaktoren für diese verwandt wurden. Da anzunehmen ist, daß die Verlustwerte der holzeigenen Aminosäuren etwas niedriger liegen, da sie nicht in vollem Umfang von Anfang an der Zerstörung ausgesetzt sind, mögen die korrigierten Aminosäurewerte etwas zu hoch sein.

Die gemeinsame salzsaure Hydrolyse von Kiefernholz und Aminosäuregemisch führte zu recht unterschiedlichen Verlustwerten. Am stärksten betroffen war Methionin, das nur zu 35 % unzerstört blieb. Sehr niedrige Wiederfund-Werte zeigten sich auch bei den basischen Aminosäuren Histidin (57 %), Lysin (60 %), und Arginin (69 %), höhere bei Tyrosin (78 %), Serin (79 %), Threonin (81 %), Alanin (86 %), Valin (87 %), Glycin (88 %) und Leucin (90 %).

Nur wenig abgebaut wurden die übrigen Aminosäuren. So blieben Isoleucin zu 93 %, Phenylalanin zu 94 %, Asparaginsäure zu 95 %, Prolin zu 97 % und Glutaminsäure zu 98 % erhalten. Da Cystein überhaupt nicht mehr nachweisbar war, muß man annehmen, daß es unter den vorliegenden Versuchsbedingungen vollständig zerstört wird.

Somit wurden insgesamt 81 % der Aminosäuren wiedergefunden, bzw. 19 % zerstört.

Unterschiedliche Zerstörungsgrade der einzelnen Aminosäuren sind auch nach der HCl-Hydrolyse gereinigten Proteinmaterials zu beobachten (WITTMANN 1959, BRENNER et al. 1967, LEGETT-BAILEY 1967), wie z. B. geringe Verluste bei Asparaginsäure, Glutaminsäure und Prolin, oder relativ hohe Verluste, außer bei den schwefelhaltigen Aminosäuren, bei Tyrosin, Serin und Threonin. Das Ausmaß der Zerstörung ist jedoch beim Holzaufschluß, bedingt durch die starken Verunreinigungen des Versuchsmaterials (siehe BRENNER et al. 1967) sehr viel höher. Ungewöhnlich hoch ist allerdings der Zerstörungsgrad der basischen Aminosäuren Histidin, Lysin und Arginin. Hohe Verluste dieser Aminosäuren erhielten auch SCURFIELD und NICHOLLS (197Ø) bei vergleichbaren Proteinhydrolysen verschiedener Eucalyptus- und Pinusarten durch Zugabe von Lignin zum aufzuschließenden Holzmaterial. Dabei wurden die Werte von Histidin, Lysin und Arginin gegenüber den Kontrollen um die Hälfte reduziert. HCl-Hydrolysen von Aminosäuregemischen mit Zusätzen von Lignin, oder anderen Holzkomponenten wie Cellulose, Hemicellulosen oder diversen Zuckern, erbrachten hohe Verluste dieser basischen Aminosäuren stets nur in Gegenwart von Lignin (ebenda). Damit dürfte dieser Holzbestandteil, der im Kiefernsplintholz immerhin einen Anteil von 20 % einnimmt, prinzipiell für die starke Zerstörung von Histidin, Lysin und Arginin verantwortlich sein.

1.5.2. Stickstoffgehalt im Hydrolyserückstand

Die Stickstoffanalysen der Holzrückstände ergaben einen Mittelwert von 125 µg Stickstoff bezogen auf g eingesetztes Holz. Der an parallelen Holzproben untersuchte Gesamtstickstoffgehalt betrug im Mittel 740 µg Stickstoff/g Holz. Somit verblieben im Rückstand 17 % des gesamten Stickstoffs. Dieser Prozentsatz liegt in der Größenordnung, die bei vergleichbaren Untersuchungen an verschiedenen Hölzern gefunden wurden. So erhielten LÜDTKE und LIEFLÄNDER (1970) bei ihren Wandproteinbestimmungen unterschiedlicher Holzfasern Stickstoffrückstandswerte von 11 % bei Fichte und 20 % bei Buche. SCURFIELD und NICHOLLS (1970) geben den nach 24-stündiger Hydrolyse im Rückstand verbliebenen Stickstoffgehalt verschiedener Eucalyptus- und Kiefernarten mit etwa 15 % an. BAKER et al. (1970) ermittelten nach ebenfalls 24 h dauerndem Aufschluß einen Stickstoffanteil im Rückstand hydrolysierten Kiefernsplintholzes von 11 %. Gegenüber den entsprechenden Literaturwerten liegen die hier für Kiefer erhaltenen 17 % geringfügig höher; dies kann möglicherweise auf die längere Hydrolysedauer von 48 h zurückgeführt werden.

Unter der Voraussetzung, daß sämtlicher Stickstoff des Huminrückstandes als Aminostickstoff vorliegt, errechnet sich der Anteil am korrigierten (siehe 1.5.1.) Gesamtaminostickstoffgehalt (580 µg pro g Holz) auf 21 %. Dieser Wert wurde ebenfalls als Korrekturfaktor eingesetzt.

2. Stickstoff- und Proteinhaushalt der Kiefernhölzer

Vorweg sei darauf hingewiesen, daß jeweils nur eine Holzprobe pro Altersstufe analysiert wurde Die aufgeführten Daten und die daraus gezogenen Schlußfolgerungen müssen daher unter diesem Aspekt, d. h. mit gewissem Vorbehalt betrachtet werden.

2.1. Stickstoff- und Proteingehalt

Die Gesamtstickstoffwerte der verschieden alten Holzproben weisen beachtliche Unterschiede auf. Wie aus Tab. 2 hervorgeht, hat das hundertjährige - also älteste - Kiefernholz den höchsten Stickstoffgehalt. Es folgt das neun Monate alte Versuchsholz und mit etwas größerem Abstand das achtzehnjährige Holz. Die niedrigsten Stickstoffwerte finden sich beim eineinhalb und sechzig Jahre gelagerten Splint. Der Stickstoffgehalt der peptongetränkten Holzproben beträgt etwa das drei - bis vierfache der Stickstoffmengen des entsprechenden unbehandelten Holzmaterials.

Die nativen Stickstoffwerte liegen somit in einer Größenordnung, die auch NICKEL (1960), BECKER (1962, 1963) und COWLING und MERILL (1966) für das Splintholz von Pinus sylvestris ermittelt hatten, und befinden sich damit in dem ganz allgemein für Holz geltenden Stickstoffbereich von 0,03 - 0,1 % (CROOK und HOLDEN 1948, ALLISON et al. 1963). Die Differenzen zwischen den Versuchsgruppen sind allerdings recht beachtlich, so weisen z. B. die sechzig Jahre gelagerten Holzproben nur etwa 64 % des Stickstoffgehaltes des hundertjährigen Holzes auf.

Die Proteinwerte der untersuchten Kiefernhölzer sind ebenfalls recht unterschiedlich (Tab. 2). Hier hat das jüngste, neun Monate alte Holzmaterial den höchsten Proteingehalt. Es folgt, mit allerdings deutlichem Abstand, das nächstältere, eineinhalbjährige Versuchsholz, demgegenüber die achtzehn und hundert Jahre alten Holzproben einen

nur wenig geringeren Proteinanteil aufweisen. Der niedrigste Proteingehalt überhaupt findet sich mit klarem Unterschied zu den Letztgenannten beim sechzigjährigen Splint.

Tab. 2 Gesamtstickstoffgehalt, Proteingehalt und prozentualer Anteil des Protein-N am Gesamt-N in Kiefernsplintholz unterschiedlichen Lagerungsalters.
Die Werte sind Mittelwerte von 2 - 3 Parallelbestimmungen an gepooltem Material.

Lagerungsalter [Jahre]	Gesamt-N (Kjeldahl) [µg/g T.G.]	Protein-N$^{+)}$ (AS-Analyse) [µg/g T.G.]	$\frac{\text{Protein-N}^{+)}}{\text{Gesamt-N}} \times 100$ [%]	Protein [mg/g T.G.]
0,8	830	720	87	4,5
1,5	590	480	82	3,0
18	660	450	68	2,8
60	580	340	58	2,1
100	900	440	49	2,8
60 + Pepton	2400	2310	96	14,4
100 + Pepton	2700	2400	89	15,0

$^{+)}$Korrigierte Werte; Korrekturfaktoren sind 1) Zerstörungsgrad der Aminosäuren während der HCl-Hydrolyse und 2) Amino-N des Hydrolyserückstandes

Die angegebenen Werte sind unter Umständen etwas zu hoch, da die angewandten Korrekturfaktoren (Zerstörungsgrad der Aminosäuren, Aminostickstoff im Hydrolyserückstand) möglicherweise etwas niedriger sind (siehe Ergebnisse 1.5.). Dies gilt auch für die Proteinwerte der peptongetränkten Versuchshölzer, die gegen-

über dem gleichalten, unbehandelten Versuchsholz das fünf- bis siebenfache und gegenüber dem proteinhaltigsten ungetränkten Holz immer noch das drei- bis vierfache an Protein aufweisen.

Die nativen Proteinwerte, die sich in einem Größenbereich befinden, den auch LAIDLAW und SMITH (1965) sowie BAKER et al. (1970) für Kiefernsplintholz ermittelten, weisen somit wohl Unterschiede, jedoch nicht in erwarteter Weise auf. So hatte das jüngste Holz den höchsten und das nächstältere den zweithöchsten Proteingehalt, die niedrigsten Proteinwerte sind jedoch nicht beim ältesten, sondern zweitältesten Versuchsholz zu finden. Daneben weichen die Proteinwerte dreier altersmäßig so differierender Holzproben wie der eineinhalb-, achtzehn- und hundertjährigen Kiefernhölzer kaum voneinander ab. Ein Zusammenhang von Proteingehalt und Holzalter läßt sich allein anhand dieser Daten nicht feststellen.

2.2. Beziehungen zwischen Stickstoffgehalt, Proteingehalt und Holzalter

Wie sich gezeigt hat, lassen die absoluten Stickstoff- und Proteinangaben keinerlei direkte Abhängigkeit zum Holzalter erkennen. Beziehungen zwischen dem Stickstoff- und Proteingehalt einerseits und dem Alter des Holzes andererseits werden jedoch sichtbar, wenn nicht die absoluten, sondern relativen Werte betrachtet werden. Wird für jede Holzaltersstufe der Anteil des Proteinstickstoffs am Gesamtstickstoffgehalt bestimmt, ergeben sich die folgenden Relationen: Den höchsten Prozentsatz von 87 % hat das jüngste, neun Monate alte Holz, d.h. 87 % des gesamten Stickstoffs liegen als Proteinstickstoff vor. Das nur wenig ältere, eineinhalbjährige Versuchsholz weist nur noch einen Anteil von 82 % auf, und beim achtzehn Jahre alten Holzmaterial reduziert sich das Verhältnis auf 68 %. Beim sechzigjährigen Holz finden sich nur noch 58 % des Gesamtstickstoffs als Proteinstickstoff wieder, während hundert

Lagerungsjahre nur noch einen Prozentsatz von 49 % ergeben (Tab. 2).

Mit fortlaufendem Holzalter verringert sich somit kontinuierlich der Anteil des Protein-N am Gesamt-N, d.h. der Proteingehalt nimmt ab, das Holz wird proteinärmer. Durch eventuell etwas geringere Proteinwerte (siehe 1.5. und 2.1.) würden zwar niedrigere Prozentzahlen resultieren, dies hätte jedoch keinen Einfluß auf den in Abb. 3 a dargestellten Verlauf der Proteinabnahme. Dieser zeigt, daß der chemische Abbau zuerst sehr rasch, dann immer schwächer werdend erfolgt. In den ersten Lagerungsjahren verringert sich der Proteinanteil um etwa 20 %, in den nächsten vierzig Jahren um 11 % und in den darauffolgenden vierzig Jahren nur noch um 8 %. Bei Übertragung der graphischen Darstellung auf halblogarithmisches Papier resultiert in guter Annäherung eine Gerade (Abb. 3 b). Daraus kann man folgern, daß die Zersetzung der Holzproteine einer logarithmischen Funktion in Abhängigkeit von der Zeit folgt. Diese Gesetzmäßigkeit findet man für viele natürliche Zerfallsfunktionen, wie z.B. beim Zerfall radioaktiver Substanzen.

Wie sich gezeigt hatte, ist die durch das Altern des Holzes verursachte Verminderung des Proteingehaltes anhand absoluter Proteinangaben nicht unbedingt erkennbar. Es ist vor allem dann nicht möglich, wenn die Werte von Holzproben stammen, die schon bei Lagerungsbeginn unterschiedliche Proteingehalte aufweisen. Dies läßt sich den entsprechenden Stickstoffwerten entnehmen, wenn man davon ausgeht, daß der Stickstoffgehalt praktisch konstant bleibt (BECKER 1962, 1963 b) und der prozentuale Anteil des Protein-N am Gesamt-N bei Lagerungsbeginn für alle Proben in etwa der Gleiche ist. Die voneinander abweichenden Stickstoffwerte der hier analysierten Hölzer weisen somit darauf hin, daß auch die Proteinwerte zu Beginn der Lagerungszeit differiert haben müssen.

Somit wäre nach den Ursachen der ursprünglich unterschiedlichen Stickstoff- und Proteinmengen der Versuchshölzer zu fragen.

Abb. 3a: Abnahme des Proteingehaltes mit zunehmendem Holzalter (linearer Maßstab)

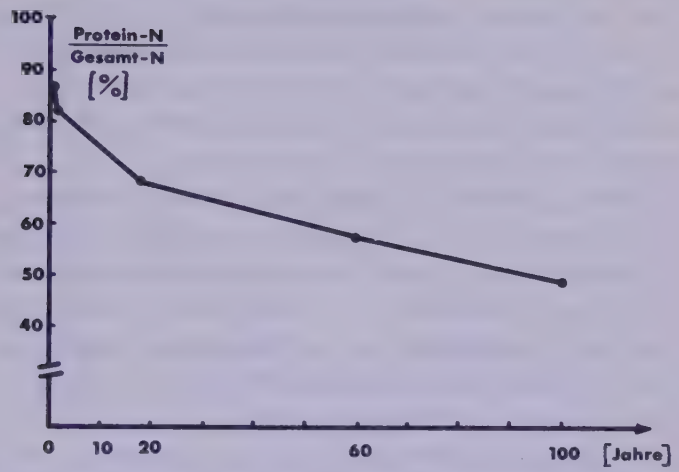
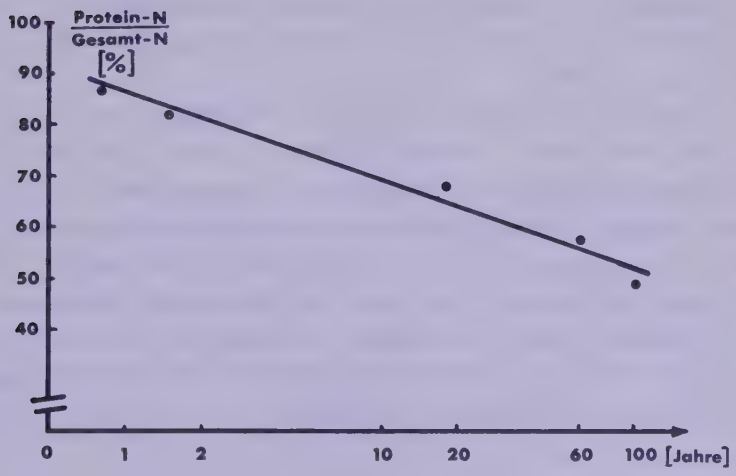


Abb. 3b: Abnahme des Proteingehaltes mit zunehmendem Holzalter (logarithmischer Maßstab)



Grundsätzlich muß bei biologischem, also heterogenem Material von vornherein mit gewissen Streuungen der Werte gerechnet werden. Dies trifft besonders dann zu, wenn, wie hier, Proben verglichen werden, die unterschiedlicher Herkunft sind bezüglich Standort, Biotop, geographische Lage, Klima etc. So stammte das neun Monate alte Kiefernholz aus dem Berliner Grunewald, während das eineinhalbjährige aus einem Kiefernwald Polens kam; die Herkunft der übrigen Hölzer ist nicht bekannt.

Hinzu kommt, daß innerhalb eines Baumstammes beachtliche Stickstoffgradienten auftreten, die bei der Auswahl des Holzmaterials in unterschiedlicher Weise zusammengetroffen sein können. So nimmt der Stickstoffgehalt nicht nur in horizontaler Richtung von außen nach innen kontinuierlich ab, sondern schon die jeweils äußersten Splintholzzonen können unterschiedliche N-Werte aufweisen (NICKEL 1960, BECKER 1962, 1963 b).

Abweichungen im Stickstoffgehalt sind auch in vertikaler Richtung eines Baumstammes zu finden, wobei der Gradient nicht immer in einer bestimmten Richtung verläuft. Bei BLETCHLY und FARMER (1959), sowie COWLING und MERILL (1966) war der N-Gehalt verschiedener Pinus-Arten am Fußende höher als in Kronennähe, bei BECKER (1962) dagegen hatte die mittlere Höhenlage eines Kiefernstammes den größten, die unterste den niedrigsten N-Gehalt.

Bei den für die Versuche ausgewählten Holzklötzchen wurde nur beim neun Monate, eineinhalb und achtzehn Jahre alten Holz mit Sicherheit der äußerste Splintbereich verwendet, der bei den beiden ältesten, vormals verbauten Versuchshölzern sicherlich nicht mehr vorhanden war. Hinzu kommt, daß die ursprüngliche Höhenlage der Holzproben im Stamm nicht bekannt und möglicherweise bei allen Proben unterschiedlich war. Auch die nicht einheitlichen Abmessungen der Klötzchen können zu den unterschiedlichen Ausgangswerten beigetragen haben.

2.3. Gesamtaminosäurespektren

Die Gesamtaminosäurespektren der fünf verschieden alten Kiefernsplinthölzer, sowie der beiden peptongetränkten Holzproben sind in Tab. 3 wiedergegeben. Von den zwanzig universellen Aminosäuren fehlen Asparagin, Glutamin, Tryptophan und Cystein. Asparagin und Glutamin werden durch die salzsaure Hydrolyse in Asparaginsäure bzw. Glutaminsäure umgewandelt und sind daher in den Werten dieser Aminosäuren enthalten, deren Gehalt dadurch in natura etwas niedriger liegen muß. Durch den HCl-Aufschluß völlig zerstört wird Tryptophan, und offensichtlich auch Cystein, wie schon die Versuche mit zugesetztem Cystein gezeigt hatten (siehe 1.5.). Nicht aufgeführt ist die typische pflanzliche Zellwandaminosäure Hydroxyprolin, die beim Einsäulenverfahren auf dem Aminosäureanalysator nicht getrennt nachgewiesen werden kann. Verzichtet wurde auf die Auswertung des Ammoniakpeaks, da nicht ganz sicher war, ob die Proben eventuell noch Spuren des ammoniakalischen Eluierungsmittels enthielten. Der Anteil zweier nicht identifizierter Peaks betrug in allen Versuchen nicht mehr als etwa 1 %, sie sind daher in der Tabelle nicht mitaufgeführt. Ein auf allen Chromatogrammen neben dem Ammoniakpeak auftretender, stets durch sehr hohe Extinktionswerte gekennzeichneter Peak erwies sich als Artefakt.

2.3.1. Unbehandeltes Holz

Aus Tab. 3 geht deutlich hervor, daß zwischen den Proteinspektren der fünf Holzaltersstufen eine hohe Übereinstimmung besteht. Gewisse Streuungen der Aminosäurewerte sind zwar vorhanden, liegen aber meist innerhalb eines relativ geringen Schwankungsbereiches, und lassen - mit einer Ausnahme - keine Beziehung zum Holzalter erkennen.

Ob die Differenzen rein zufälliger Art sind oder ob sich die

Tab. 3 Gesamtaminosäurespektren verschieden alter Kiefernsplinthölzer

Aufgeführt sind die mit dem jeweiligen Zerstörungsgrad korrigierten Aminosäuremittelwerte von 3 Bestimmungen an gepooltem Holzmaterial

Alter [Jahre]	Aminosäureanteile [Mol %]															
	ASP	THR	SER	GLU	PRO	GLY	ALA	VAL	MET	ILE	LEU	TYR	PHE	HIS	LYS	ARG
0,8	9,6	7,5	8,3	9,9	5,8	9,7	9,6	7,5	1,7	5,3	7,9	1,3	3,7	1,6	5,1	4,2
1,5	10,5	7,9	7,9	9,4	6,7	8,9	9,4	7,5	1,5	5,4	8,0	1,2	4,0	2,0	5,1	3,8
18	9,4	8,2	7,3	9,4	6,7	9,8	10,7	8,0	1,6	5,5	7,4	1,8	3,9	1,5	5,3	3,7
60	9,6	7,8	8,4	9,5	7,2	9,2	9,9	7,8	1,5	5,5	7,3	1,1	3,8	1,5	5,2	3,5
100	9,6	7,2	8,3	9,9	6,9	9,1	10,0	8,0	1,6	5,4	7,8	1,5	3,8	1,4	5,3	2,5
60 + Pepton	8,8	5,0	7,7	16,9	13,4	4,6	4,9	6,7	2,1	5,0	7,7	1,3	3,7	1,7	5,5	4,1
100 + Pepton	8,9	5,1	7,6	16,6	12,7	5,6	5,8	6,5	2,0	5,8	7,3	1,4	3,5	1,6	5,1	4,0

prozentualen Aminosäureanteile in den verschieden alten Hölzern signifikant unterscheiden, wurde durch Varianzanalysen getestet, wobei der Vergleich der Varianzen mit dem F-Test erfolgte. Dies führte mit Ausnahme von Arginin in allen Fällen zu Werten von $p > 0,05$. Daraus kann man schließen, daß diese Aminosäurewerte der verschiedenen Holzalterstufen einer Grundgesamtheit angehören, d.h. die aufgetretenen Abweichungen lassen sich dem Zufall bzw. einer normalen biologischen Variabilität zuschreiben.

Die Varianzanalyse der Argininwerte dagegen ergab einen p-Wert knapp über 0,01, d.h. die Argininwerte der fünf verschieden alten Kiefernhölzer unterscheiden sich - wenn auch nur schwach - signifikant voneinander. Zusätzlich läßt sich eine direkte Abhängigkeit zum Holzalter erkennen, denn der prozentuale Anteil von Arginin am Gesamtaminosäuregehalt sinkt beim Altern des Holzes kontinuierlich ab (Tab. 3), wobei die höchste Differenz sich zwischen dem sechzig und hundert Jahre alten Holz findet. Eine weitere Varianzanalyse der Argininwerte, ohne die Werte der ältesten Holzprobe, führte zu einem Wert von $p > 0,05$, d.h., zwischen den bis zu sechzig Jahre gelagerten Kiefernhölzern bestehen keine statistisch signifikanten Unterschiede im Proteinspektrum, auch nicht für Arginin. Daraus ließe sich folgern, daß der im Vergleich zu den anderen Aminosäuren beschleunigte Abbau von Arginin erst nach sechzig Lagerungsjahren deutlich einsetzt.

An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Messungen an nur einer Holzprobe je Altersstufe durchgeführt wurden. Daher sind endgültige Aussagen besonders darüber, ob, und wenn ja, ab welchem Holzalter Arginin beschleunigt abgebaut wird, erst nach den Analysen mehrerer Holzproben je Altersstufe berechtigt.

In diesem Zusammenhang sei auf die Ergebnisse von Untersuchungen verschieden alter Eichensplinthölzer (Quercus robur) hingewiesen (ADELSBERGER unveröffentlicht), die zu differierenden Gesamtaminosäurespektren auch bezüglich Arginins führten. Hier

hatte das knapp eineinhalbjährige Versuchsmaterial mit 9 % vom Gesamtaminosäuregehalt einen relativ hohen Anteil, während das zwanzigjährige mit etwa 4 % nur noch knapp die Hälfte aufwies. Im Vergleich zum Nadelholz Kiefer setzt beim Laubholz Eiche der erhöhte Zerfall von Arginin offensichtlich schon nach wenigen Lagerungsjahren ein. Eine Erklärung hierfür kann vorerst nicht gegeben werden, wie auch nicht für die mit zunehmendem Holzalter beschleunigte Abnahme speziell dieser Aminosäure.

Unter den oben genannten Vorbehalten läßt sich zum Nahrungswert alternden Kiefernholzes anhand der bisherigen Ergebnisse folgendes aussagen: Mit zunehmendem Holzalter sinkt der Proteingehalt kontinuierlich ab, während die Proteinzusammensetzung, eventuell ausgenommen Arginin, konstant bleibt, d. h. der durch Witterungseinflüsse bedingte Zerfall der Holzaminosäuren verläuft mit einer Ausnahme für alle Aminosäuren gleich schnell. Ein beschleunigter Abbau von Arginin tritt, wenn überhaupt, erst in hohen Lagerungsjahren auf. Dies könnte bedeuten, daß der Nahrungswert des Kiefernholzes mit zunehmendem, und vor allem bei sehr hohem Holzalter nicht nur durch den abnehmenden Gesamtgehalt an Aminosäuren, sondern auch durch den beschleunigt abnehmenden Gehalt dieser einen Aminosäure limitiert wird, die für die Insekten essentiell ist (CHEFURKA 1965, HOUSE 1965).

Die Ergebnisse der Varianzanalysen rechtfertigen die Bildung eines aus den fünf Holzaltersstufen gemittelten Proteinspektrums, das in Tab. 4 und Tab. 5 aufgeführt ist. Daraus geht hervor, daß der Gehalt an nicht-essentiellen Aminosäuren überwiegt, während die essentiellen nur mittlere, aber vor allem die niedrigsten Werte innerhalb des Spektrums aufweisen. Ein Vergleich dieses gemittelten Proteinspektrums mit dem von BAKER et al. (1970) für dreißigjähriges Kiefernsplintholz erhaltenen läßt trotz etwas unterschiedlicher Hydrolysebedingungen und Korrekturfaktoren eine recht gute Übereinstimmung erkennen (Tab. 4).

Tab. 4 Vergleich der Proteinspektren von Kiefernsplintholz der vorliegenden Untersuchungen und der von BAKER et al. (1970) durchgeführten Analysen

	Aminosäureanteile [Mol %]	
Aminosäure	BAKER et al. (1970)[1]	Eigene Ergebnisse[2]
ASP	10,8	9,8
THR	6,6	7,9
SER	8,1	8,0
GLU	9,6	9,6
PRO	5,4	6,7
GLY	8,1	9,4
ALA	9,7	9,9
VAL	7,2	7,5
MET	2,5	1,6
ILE	4,9	5,4
LEU	7,8	7,7
TYR	1,5	1,4
PHE	4,1	3,9
HIS	1,3	1,6
LYS	4,1	5,2
ARG	3,0	4,2 - 2,5
TRP	0,4	-

[1] Spektrum dreißigjährigen Kiefernholzes

[2] Gemitteltes Spektrum fünf verschieden alter Kiefernhölzer

BAKER et al. (1970) haben durch eine zusätzliche alkalische Proteinhydrolyse, bei der Tryptophan unzerstört bleibt, den Gehalt dieser Aminosäure im Holz ermittelt, der mit einem Anteil von 0,4 % am Gesamtprotein den niedrigsten Wert innerhalb der zwanzig universellen Aminosäuren aufweist. Möglicherweise stellt Tryptophan mit diesen extrem niedrigen Werten die grundsätzlich den Nahrungswert von Kiefernholz limitierende Aminosäure dar. So würden zumindest die Ergebnisse von BECKER (1942 a) verständlich, der bei Zusätzen verschiedener - auch essentieller - Aminosäuren zum Futterholz die höchsten Wachstumssteigerungen von Hausbocklarven bei Zugabe von Tryptophan erzielte.

Aus dem gemittelten Gesamtaminosäurespektrum wurde der Stickstoffgehalt des Holzproteins berechnet. Es resultierte ein prozentualer Mittelwert von 15,8 %, der knapp unter dem meistangegebenen Wert von 16 % liegt und bei den anfallenden Umrechnungen von Stickstoff- auf Proteinwerte und umgekehrt eingesetzt wurde.

2.3.2. Peptongetränktes Holz

Wie aus Tab. 3 zu ersehen ist, stimmen die Aminosäurespektren der beiden peptongetränkten Holzproben untereinander völlig überein, unterscheiden sich jedoch von den Spektren der unbehandelten Hölzer. Wesentliche Abweichungen zeigen sich allerdings nur bei vier Aminosäuren. So haben Glutaminsäure und Prolin im behandelten Holz einen etwa doppelt so hohen, Glycin und Alanin dagegen nur einen halb so hohen Anteil am Gesamtprotein. Nur geringfügige Differenzen finden sich bei Asparaginsäure, Valin und Methionin, etwas höhere bei Threonin. Durch Mittelwertbildung der übereinstimmenden Aminosäurewerte resultiert eine Gesamtaminosäurezusammensetzung für das peptongetränkte Holz, wie sie in Tab. 5 wiedergegeben ist.

Die rechnerisch aus den Aminosäurewerten der getränkten und nichtgetränkten Holzproben ermittelte Aminosäurezusammensetzung des zugeführten Peptons, die eine hohe Übereinstimmung zu den von der Fa.

Tab. 5 Gesamtaminosäurespektren der unbehandelten und peptongetränkten Kiefernhölzer, sowie des verwendeten Peptons. Die Werte sind gemittelt aus 5 bzw. 2 Versuchsserien. Ebenfalls aufgeführt ist die Standardabweichung s .

Aminosäure[1]	Aminosäureanteile [Mol %]				
	Unbehandeltes Kiefernholz	s	Peptongetränktes Kiefernholz	s	Peptonum sicco e caseino[2]
ASP	9,7	±0,42	8,8	±0,24	8,6
THR	7,7	±0,45	5,0	±0,23	5,0
SER	8,0	±0,50	7,6	±0,27	7,2
GLU	9,6	±0,39	16,7	±0,54	18,4
PRO	6,7	±0,54	13,0	±0,47	13,7
GLY	9,3	±0,49	5,1	±0,60	4,0
ALA	9,9	±0,51	5,3	±0,54	4,0
VAL	7,7	±0,43	6,6	±0,30	6,3
MET	1,6	±0,33	2,0	±0,17	2,9
ILE	5,4	±0,30	5,4	±0,52	6,5
LEU	7,7	±0,58	7,5	±0,33	7,6
TYR	1,4	±0,35	1,3	±0,17	1,3
PHE	3,8	±0,41	3,6	±0,26	3,5
HIS	1,6	±0,34	1,7	±0,17	2,0
LYS	5,2	±0,29	5,3	±0,33	5,4
ARG	3,6	±0,67	4,0	±0,37	4,3

[1] Die unterstrichenen Aminosäuren sind die für die Tiere essentiellen.

[2] Errechnete Werte

Witte angegebenen Daten aufweist, ist ebenfalls in der Tab. 5 aufgeführt und unterscheidet sich nicht von der des damit getränkten Holzes. Dies zeigt, daß die Aminosäurezusammensetzung der behandelten Holzproben maßgeblich durch das zugesetzte Pepton bestimmt wird, was nicht verwundert, da der Peptonanteil den natürlichen Proteinanteil um das Sechs- bis Siebenfache übertrifft. Die oben beschriebenen Übereinstimmungen und Abweichungen zwischen den Spektren des unbehandelten und behandelten Holzes bestehen daher auch zwischen den Spektren von Pepton und unbehandeltem Holz (siehe Tab. 5). Dies bedeutet, daß hinsichtlich der für die Tiere essentiellen Aminosäuren nur geringe Diskrepanzen auftreten. Hierdurch könnte eventuell die hohe Effektivität dieses Peptons für die Entwicklung von Hausbocklarven erklärt werden, wenn es dem Kiefernholz zugesetzt wird. Bei Zugabe verschiedener Peptone zum Futterholz konnte BECKER (1942 a, 1949) die höchsten Gewichtszunahmen von Hylotrupes bajulus mit "Peptonum sicco e caseino" und "Pepton 203" erzielen, während sich die sechs übrigen Peptonzusätze weniger wachstumsfördernd verhielten. Die Aminosäurezusammensetzung letztgenannter unterscheidet sich möglicherweise in stärkerem Maße von der Aminosäurezusammensetzung der natürlichen Nahrungsquelle, so daß ein geringerer Anteil von einer oder mehreren essentiellen Aminosäuren zu einer verzögerten Larvenentwicklung führen kann.

Es muß nun geprüft werden, ob der geringere Aminosäuregehalt der essentiellen Aminosäuren Threonin und Valin im Pepton bzw. peptongetränkten Holz schon als Nahrungswertbegrenzung anzusehen ist. Die Differenzen bei Valin sind äußerst gering und können innerhalb der Fehlergrenze der Bestimmungs- und Auswertungsverfahren liegen. Bei den Threonin-Werten findet sich immerhin eine Diskrepanz von 2 - 3 % (Tab. 4). Ein t-Test zwischen den Mittelwerten des unbehandelten und getränkten Holzes führte zu einem p-Wert $< 0,0027$, d. h. die Threoninanteile unterscheiden sich signifikant voneinander. Threonin könnte somit die limitierende Aminosäure des Peptons und damit auch des peptongetränkten Holzes sein.

Diese Vermutung wird bestärkt durch Berechnung der vielfachen Mengen jeder Aminosäure im behandelten Holz gegenüber den entsprechenden Aminosäuremengen im unbehandelten Holz. So weist Threonin mit der 3 - 4-fachen Menge den niedrigsten Wert innerhalb der essentiellen Aminosäuren auf, während die vielfachen Mengen der übrigen essentiellen Aminosäuren immerhin das 5 - 8-fache betragen, wobei der höchste Wert bei Methionin zu finden ist. Korrelationsanalysen zwischen Tierwachstum und Threoninmenge können klären, ob Threonin tatsächlich den Nahrungswert dieses Peptons limitiert (siehe 3.5.4.).

Als begrenzende Aminosäure des peptongetränkten Holzes könnte noch das hier nicht erfaßte Tryptophan in Frage kommen. Wie schon beschrieben, ergibt sich aus dem mit den eigenen Ergebnissen gut übereinstimmenden Aminosäurespektrum des Kiefernholzes von BAKER et al. (1970) (Tab. 4) ein Tryptophananteil von 0,4 % am Gesamtprotein. Eine getrennte Tryptophanbestimmung von Peptonum sicco e caseino nach der Methode von SPILS und CHAMBERS (1949) führte zu einem prozentualen Anteil von 1,0 % am Gesamtpepton, also einem sehr viel höheren Wert als im Holzprotein. Als limitierender Faktor des Peptons scheidet Tryptophan daher wohl aus.

3. Entwicklung und Verdauung der Hausbocklarven

3.1. Nahrungsaufnahme

Wie aus Tab. 6 hervorgeht, sind die konsumierten Mengen an Futterholz recht unterschiedlich. Bei den Larven, die im jüngsten, proteinhaltigsten Holz gebohrt haben, findet sich die maximale Fraßmenge. Geringere, aber untereinander gleich hohe Mengen haben die Tiere im eineinhalb, achtzehn, sechzig und hundert Jahre alten Kiefernsplint aufgenommen. Die schwächste Fraßtätigkeit ist im peptongetränkten, sechzig und hundert Jahre alten Holz zu beobachten. Eine statistische Prüfung der Mittelwerte mit dem t-Test führt zu folgenden Aussagen ($p < 0,0027$ hochsignifikanter Unterschied, $0,0027 > p < 0,05$ schwach signifikanter Unterschied und $p > 0,05$ keine Signifikanz):

a) Hochsignifikante Unterschiede zwischen den Fraßmengen des neun Monate gelagerten Holzes und aller übrigen Hölzer.
b) Hochsignifikante Unterschiede zwischen den konsumierten Mengen von peptongetränktem und gleichaltem, unbehandeltem Versuchsholz.
c) Keine signifikanten Unterschiede im Fraßverhalten der Tiere beim eineinhalb-, achtzehn-, sechzig- und hundertjährigen Futterholz.

Eine sehr viel geringere Fraßtätigkeit in peptongetränkten Hölzern konnte auch BECKER (1942 a) beobachten. In seinen Versuchen wurde von den Hausbocklarven bei ca. 3 %igem Zusatz von Peptonum sicco e caseino nur noch 1/7 der Holzmenge zerstört, die für eine gleiche Gewichtszunahme der Kontrolltiere nötig war. Bei der hier vorliegenden 1 %igen Peptonzugabe fressen die Tiere im Vergleich zu den Bezugstieren nur halbsoviel und nehmen etwa um das Doppelte an Gewicht zu (siehe Tab. 8), d.h. umgerechnet nur 1/4 der Holzmengen würden zerstört, um zu gleich hohen Wachstumsraten zu kommen.

Ein künstlich erhöhter Proteingehalt des Futterholzes führt somit zu einer verminderten Fraßtätigkeit der Tiere. Daraus ließe sich

folgern, daß ein mit zunehmendem Holzalter sich stetig verringernder Proteingehalt zu entsprechend verstärkter Fraßtätigkeit führt. Wie die vorliegenden Ergebnisse zeigen, ist dies jedoch nicht der Fall, denn nicht das proteinärmste, sondern das proteinhaltigste, neun Monate alte Versuchsholz erleidet den höchsten Gewichtsverlust. Die Fraßtätigkeit in den älteren Versuchshölzern ist deutlich niedriger, jedoch innerhalb der proteingleichen Hölzer und auch im proteinärmsten sechzigjährigen Futterholz recht gleichmäßig. Vergleichbare Ergebnisse erzielte KÖRTING (1961) in seinen Versuchen über das Wachstum von Hausbocklarven in verschieden alten Fichtenhölzern. Larven mit einem Anfangsgewicht von 26 - 50 mg zeigten in den fünf, sechzig, hundert und mehr als dreihundertfünfzig Jahre alten Hölzern konstantes Fraßverhalten, obwohl die Entwicklungsgeschwindigkeit der Tiere mit zunehmendem Holzalter immer niedriger wurde, d. h. offensichtlich auch der Proteingehalt des Holzes abgenommen hatte. Larven mit etwas höherem Anfangsgewicht konsumierten sogar deutlich mehr vom jüngsten Fichtenholz als von den älteren Hölzern. Offensichtlich spielen hierbei noch andere Stoffgruppen der Holznahrung eine Rolle. Dies könnten die ebenfalls essentiellen Vitamine sein, die, noch unbeständiger als die Proteine, auch als nahrungswertlimitierende Faktoren zu betrachten sind (siehe BECKER 1963 a). Ein möglicherweise sehr viel höherer Vitamingehalt des noch relativ frischen, jüngsten Versuchsholzes könnte zu gesteigerter Stoffwechselaktivität und damit auch zu gesteigerter Fraßtätigkeit der Larven führen.

3. 2. Verwertung der Holznahrung

Die Mengen an ausgeschiedenem Kot entsprechen den Mengen an aufgenommenem Futterholz, d. h. wurde mehr Futterholz konsumiert, wurde auch mehr Fraßmehl gebildet (Tab. 6). Daher findet sich die maximale Bohrmehlmenge im jüngsten Kiefernholz und sind die

Tab. 6 Aufnahme und Verwertung der unterschiedlich alten Kiefernholznahrung durch die Larven von Hylotrupes bajulus L.. Mitaufgeführt ist die Standardabweichung s.
Versuchsbedingungen: 12 Wochen Fraßdauer, 26 ^{0}C, 70 - 75 % relative Luftfeuchte.
Angegeben sind die Mittelwerte aus jeweils 10 - 17 Einzelwerten.

Holzalter [Jahre]	Konsumiertes Futterholz [g T.G./Tier]	s	Ausgeschiedene Faeces [g T.G./Tier]	s	Verdaulichkeits-koeffizient Vk +) [%]	$\frac{\text{T.G.-Zunahme der Tiere}}{\text{Netto-Nährstoffaufnahme (T.G.)}} \times 100$ [%]
0,8	1,94	± 0,40	1,42	± 0,31	27	2,1
1,5	1,23	± 0,26	0,93	± 0,24	25	1,6
18	1,17	± 0,34	0,89	± 0,30	24	1,3
60	1,25	± 0,45	0,95	± 0,36	24	1,4
100	1,27	± 0,21	0,99	± 0,15	22	1,4
60 + Pepton	0,71	± 0,23	0,54	± 0,26	24	1,9
100 + Pepton	0,69	± 0,25	0,53	± 0,29	23	1,8

+) $Vk = \frac{\text{Konsumiertes Futterholz (T.G.) - Ausgeschiedene Faeces (T.G.)}}{\text{Konsumiertes Futterholz (T.G.)}} \times 100$

Kotmengen im eineinhalb, achtzehn, sechzig und hundert Jahre alten Versuchsholz geringer, weisen aber untereinander wiederum keine Unterschiede auf. Demgemäß sind die niedrigsten Bohrmehlwerte im peptongetränkten Futterholz zu beobachten.

Die innerhalb der Holzaltersstufen auftretenden Differenzen zwischen den produzierten Mengen an Faeces entsprechen somit den Abweichungen der konsumierten Holzmengen; auf eine statistische Prüfung der Werte wurde daher verzichtet. So führt die Berechnung des Verdaulichkeitskoeffizienten Vk nach TRAGER (1953) und HOUSE (1965) zu gleich hohen, übereinstimmenden Werten, d.h. die prozentuale Ausnutzung der Nahrung ist unabhängig von der Menge aufgenommener Nahrung (Tab. 6). Der ermittelte Vk schwankt zwischen 22 und 27 %, und sagt aus, daß nur etwa 1/4 der zerstörten Holzmenge verwertet wird. Diesen nicht sehr hohen Wirkungsgrad von ca. 25 % erhielt auch SEIFERT (1962) bei seinen Untersuchungen über die Verwertung der Kiefernholzbestandteile durch die Larven von Hylotrupes bajulus.

Ein Vergleich mit den entsprechenden Werten anderer holzzerstörender Insekten läßt z.B. bei Anobium punctatum eine etwas höhere Ausnutzung der Nahrung erkennen. Die Anobienlarven verwerten Kiefernholz zu etwa 30 % (BAKER et al. 1970) bzw. 32 % (ADELSBERGER unveröffentlicht) und Eichensplintholz gar zu 39 % (ebenda). Der Vk von Lyctus brunneus auf Eichensplintholz dagegen ist mit 25 % dem von Hylotrupes vergleichbar (ebenda).

Betrachtet man die Verdaulichkeitskoeffizienten einiger anderer, pflanzenfressender Insekten, so sind nur zum Teil höhere Werte zu beobachten. Der Vk für Prodenia eridiana auf Bohnenkeimlingen beträgt 48 % (CROWELL 1941), für Pieris brassicae auf Kohlblättern 36 - 39 %, für Phalera bucephala auf Weißbuche 35 %, für Malacosoma neustria auf Weide 34 % und für Aglais urticae auf Nesseln 26 % (EVANS 1939 a, b). Der Vk der ebenfalls pflanzenfressenden Milchkuh ist mit 77 % (MAYNARD 1937) dagegen weitaus höher.

Nach TRAGER (1953) liegt der Grund für die relativ niedrigen Werte der pflanzenfressenden Insekten in der Unfähigkeit der Tiere, den Faseranteil ihrer Nahrung optimal aufzuschliessen, denn die Verdaulichkeitskoeffizienten nichtpflanzenfressender Insekten liegen ebenfalls deutlich höher. So hat z. B. Anatis mali nach dem Fressen von Aphiden einen Vk von etwa 80 % (SMITH 1962). Das Unvermögen zur Ausnutzung der pflanzlichen Zellwandbestandteile zeigt sich mit einem Verdauungswert von 0,7 % besonders deutlich bei der Maulbeerblätter fressenden Seidenraupe Bombyx mori, während die grasfressende Milchkuh immerhin 74 % der rohen Zellfaser verwerten kann (MAYNARD 1937). Gegenüber Bombyx mori finden sich bei den holzzerstörenden Insekten schon recht hohe Aufschlußwerte der Zellwandbestandteile mit insgesamt etwa 25 - 35 % (SEIFERT 1962, BAKER et al. 1970) und lassen damit doch eine relativ gute stoffwechselphysiologische Anpassung an den gewählten Lebensraum erkennen.

Als Maß für die Effektivität der Umwandlung von Nahrungsmaterial in Körpermaterial kann der Trockengewichtsgewinn der Tiere (siehe Tab. 8 und 11) dividiert durch das Trockengewicht der Netto-Nährstoffaufnahme, ausgedrückt in Prozent (HOUSE 1965), betrachtet werden. Diese Werte erweisen sich bei den Hausbocklarven als extrem niedrig und bewegen sich zwischen 2,1 % bei den Larven des jüngsten Holzes und etwa 1,4 % bei den Larven der vier übrigen unbehandelten Hölzer (Tab. 6). Im Vergleich dazu vermögen Prodenia eridiana 33 % (CROWELL 1941), Aglais urticae 16 % (EVANS 1939) und Anatis mali 25 % (SMITH 1962) der konsumierten Nahrungsmenge in Körpermaterial umzuwandeln. Wie HOUSE (1965) feststellte, hängt die Effizienz, aufgenommene Nahrung in Körpermaterial und Energie umzuwandeln, von der Ausgewogenheit der Nahrung ab, d. h. von den Verhältnissen der Nahrungsstoffe zueinander. Schon der Mangel nur einer der lebensnotwendigen Substanzen kann, um diesen Mangel auszugleichen, zu einem enormen Nahrungskonsum, und damit verbunden, zu ungenügender Ausnutzung der Nahrung führen (GORDON 1959). Die von den Hausbocklarven aufgenommene Holznahrung weist solch eine unausgewogene Zusammen-

setzung auf, indem ein verschwindend geringer Proteinanteil einem dominierenden Anteil an Kohlenhydraten gegenübersteht. Dies können die Tiere nur durch eine hohe Fraßtätigkeit ausgleichen, dabei würde man eine optimale Ausnutzung der Holzproteine erwarten.

3. 3. Ausnutzung der Holzproteine

Wie bei den Untersuchungen von SEIFERT (1962) und BAKER et al. (1970) über die Verwertung der Holzbestandteile durch Hylotrupes- bzw. Anobienlarven, findet sich bei den vorliegenden Analysen der Stickstoffgehalt des Holzes in gleicher Höhe im Kot der Tiere wieder (Tab. 7). Ein Vergleich der Gesamtaminosäurewerte von Holz und Kot dagegen läßt wie bei BAKER et al. einen geringeren Gehalt bei den Faeces erkennen (Tab. 7). Daraus geht hervor, daß die Hausbocklarven die Proteine in bestimmtem Ausmaß aufschliessen und als nichtamino-N-haltige Substanzen wieder ausscheiden. Aus Tab. 7 ist ersichtlich, daß der Grad der Verwertung in allen Versuchsserien konstant ist, aber nicht optimal, denn es werden nur 45 - 49 % der aufgenommenen Proteinmenge ausgenutzt. Dieser Prozentsatz erscheint vor allem dann sehr niedrig, wenn man zugrunde legt, daß diese Stoffklasse einen begrenzenden Nahrungsfaktor darstellt. Die starke Fraßtätigkeit der Tiere und die damit verbundene Holzzerstörung sind allerdings dadurch noch besser verständlich. Da die Larven offensichtlich nicht in der Lage sind, den schon sehr geringen Proteinanteil ihrer Nahrung bestmöglich aufzuschliessen, müssen sie zwangsweise enorm hohe Holzmengen konsumieren, um ihren Eiweißbedarf zu decken. Nach SEIFERT (1962) und BECKER (1963 a) ist die Ursache für die grundsätzlich nicht sehr gute Ausnutzung der Holzbestandteile vermutlich in der außerordentlich kurzen Verweildauer der Nahrung im Darm zu suchen. Dies könnte auch eine Erklärung für die ebenfalls nicht optimale Ausnutzung der leichtlöslichen Peptone des behandelten Holzes sein. Für dieses Argument

Tab. 7 Gesamtstickstoff- und Gesamtaminosäuregehalt von Holz und Faeces, sowie Aufnahme, Ausscheidung und Ausnutzung der Gesamtaminosäuren durch die Hausbocklarven. Angegeben sind Mittelwerte aus jeweils [1] 2 - 3 Bestimmungen an gepooltem Material, [2] 10 - 17 Einzelwerten. Hier ist die Standardabweichung s mitaufgeführt.

Holzalter [Jahre]	Gesamt - N [1] (Kjeldahl)		Gesamtamino- [1] säuren [+]		Gesamt-AS-aufnahme [2]		Gesamt-AS-ausscheidung [2]		Ausnutzung der aufgenommenen Gesamt-AS
	Holz	Faeces	Holz	Faeces	Holz		Faeces		
	[mg/g T.G.]	[mg/g T.G.]	[mg/g T.G.]	[mg/g T.G.]	[mg/Tier]	s	[mg/Tier]	s	[%]
0,8	0,83	0,81	4,5	3,1	8,7	± 1,9	4,4	± 0,8	49
1,5	0,59	0,59	3,0	2,1	3,7	± 0,5	2,0	± 0,3	46
18	0,66	0,65	2,8	2,0	3,3	± 0,6	1,8	± 0,4	45
60	0,58	0,59	2,1	1,5	2,6	± 0,8	1,4	± 0,5	46
100	0,90	0,89	2,8	2,0	3,5	± 0,6	1,9	± 0,3	46
60 + Pepton	2,40	2,30	14,4	10,0	10,3	± 2,5	5,4	± 2,0	48
100 + Pepton	2,70	2,64	15,0	10,2	10,4	± 3,1	5,4	± 2,2	48

[+] korrigierte Werte (siehe Tab. 2)

spricht außerdem die von SEIFERT (1962) im Kot der Hausbocklarven nachgewiesene Anzahl nichtresorbierter, wasserlöslicher Zucker. BAKER et al. (1970) nehmen daher an, daß nur die Oberfläche der den Darm passierenden Holzpartikel enzymatisch aufgeschlossen wird, während die inneren Anteile unangegriffen wieder ausgeschieden werden.

3.4. Wachstumsraten

Die mittleren Gewichtszunahmen der Hausbocklarven weisen nach zwölfwöchiger Fraßdauer in den verschieden alten Versuchshölzern recht unterschiedliche Werte auf (Tab. 8). Betrachtet man das Wachstum in den unbehandelten Hölzern, so ist die mit Abstand höchste Wachstumsrate bei den Tieren zu finden, die im jüngsten, neun Monate alten Holz gefressen haben. Die niedrigste Gewichtszunahme ist bei den Larven anzutreffen, die sich im sechzigjährigen Kiefernholz entwickelten. Dazwischen liegen die sich kaum voneinander unterscheidenden Wachstumswerte der Hausbocklarven aus dem eineinhalb-, achtzehn- und hundertjährigen Versuchsholz. In den peptongetränkten Hölzern ist die Entwicklungsgeschwindigkeit der Tiere deutlich höher, als in den gleich alten unbehandelten Holzproben. Die Gewichtszunahmen sind jedoch um einiges niedriger als der im jüngsten Holz erreichte Gewichtszuwachs.

Die hier beobachtete Larvenentwicklung verläuft insgesamt etwas langsamer als bei den Wachstumsversuchen von BECKER (1963 b), die mit gleichen Anfangsgewichten der Tiere und gleichlanger Versuchsdauer bei vergleichbarem N- bzw. Proteingehalt der Holzproben durchgeführt wurden. Dies läßt sich auf etwas unterschiedliche Versuchsbedingungen zurückführen. Die von BECKER gewählten Wechselbedingungen (2 Tage 30°C und 95 % rel. Luftfeuchte, 5 Tage 24°C und 65 % rel. Luftfeuchte) bewirken gegenüber konstanten Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen eine beschleunigte Larvenentwicklung

(BECKER 1949), konnten aber hier wegen dabei auftretender Schimmelgefahr nicht zur Anwendung kommen.

Wie aus Tab. 8 hervorgeht, sind die Streuungen zwischen den Einzelwerten innerhalb einer Versuchsserie recht groß. Dies ist bei der Inhomogenität des Versuchsmaterials nicht ungewöhnlich, denn auch bei BECKER (1942 a, 1949, 1963 b), RASMUSSEN (1956), SCHULTZE-DEWITZ (1957) und KÖRTING (1959) sind Streuungen der Endgewichte bis zu einem Verhältnis von 1 : 4 zu finden. Endgültige Aussagen über das Wachstum der Hausbocklarven in den verschieden alten Kiefernhölzern sind somit erst nach einer statistischen Untersuchung der Werte möglich. Die Prüfung der Mittelwerte jeweils zweier Holzalterstufen mit dem t-Test führt zu den in Tab. 9 aufgeführten p-Werten. Setzt man die Grenze für hochsignifikant bei $p < 0,0027$ und für schwach signifikant bei $0,05 < p > 0,0027$, ergibt sich:

a) Hochsignifikanter Unterschied zwischen den Wachstumswerten der Tiere des neun Monate alten Holzes und sämtlicher anderen Holzaltersstufen, einschließlich der peptongetränkten Hölzer.
b) Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Wachstumsraten in eineinhalb-, achtzehn- und hundertjährigem Holz.
c) Schwach signifikante Unterschiede zwischen den Wachstumswerten in sechzigjährigem Kiefernholz einerseits und denen im eineinhalb, achtzehn und hundert Jahre alten Holz andererseits.
d) Hochsignifikante Unterschiede zwischen dem Wachstum der Tiere im sechzig bzw. hundert Jahre alten Holz und im gleichalten, peptongetränkten Versuchsholz.

Die Wachstumswerte der Tiere lassen keine direkte Abhängigkeit zum Holzalter erkennen. Welche Beziehungen zwischen dem Larvenwachstum und dem Stickstoff- bzw. Proteingehalt des Holzes einerseits, sowie den real aufgenommenen Mengen an Protein bzw. einzelnen Aminosäuren andererseits bestehen, wurde anhand von Korrelationsanalysen ermittelt.

Tab. 8 Wachstum von Hausbocklarven von 20 - 50 mg Anfangsgewicht in unterschiedlich altem Kiefernsplintholz. Mitangegeben ist die Standardabweichung s . Versuchsbedingungen: 12 Wochen Fraßdauer, 26°C, 70 - 75 % relative Luftfeuchte.

Gewichtszunahme der Tiere in % des Anfangsgewichtes (Einzelwerte)	Lagerungsalter des Holzes [Jahre]						
	0,8	1,5	18	60	100	60 + Pepton	100 + Pepton
	130	61	58	67	67	114	110
	129	61	57	52	66	99	103
	123	51	55	40	59	95	93
	112	50	51	34	52	89	92
	108	45	49	33	50	79	86
	106	42	41	32	47	74	80
	106	39	41	28	46	72	77
	99	37	40	26	41	72	75
	99	36	40	23	39	70	73
	96	31	40	20	36	50	68
	94		39	20	35	45	64
	91		37	19	31	44	52
	87		36	17	29	41	51
	86		33	12	26	41	49
	84		28	12	23		48
	83		24				40
			20				
Mittel	102	45	41	29	43	70	74
s	±15,3	±10,3	±11,2	±15,0	±13,8	±23,6	±21,0

Tab. 9 Vergleich der Wachstumsmittelwerte jeweils zweier Holzaltersstufen mit dem t-Test

Holzaltersstufen [Jahre]	Mittelwerte [%]	p-Werte	
0,8 vs. 1,5	102 vs. 45	0,0002	+++
0,8 vs. 18	102 vs. 41	0,0002	+++
0,8 vs. 60	102 vs. 29	0,0002	+++
0,8 vs. 100	102 vs. 43	0,0002	+++
0,8 vs. 60 + Pepton	102 vs. 70	0,0002	+++
0,8 vs. 100 + Pepton	102 vs. 74	0,0002	+++
1,5 vs. 18	45 vs. 41	0,27	-
1,5 vs. 60	45 vs. 29	0,024	+
1,5 vs. 100	45 vs. 43	0,46	-
18 vs. 60	41 vs. 29	0,045	+
18 vs. 100	41 vs. 43	0,65	-
60 vs. 100	29 vs. 43	0,050	+
60 vs. 60 + Pepton	29 vs. 70	0,0002	+++
100 vs. 100 + Pepton	43 vs. 74	0,001	+++

+++ hochsignifikant

\+ schwach signifikant

\- nicht signifikant

3.5. Untersuchte Einflüsse auf das Larvenwachstum

3.5.1. Stickstoffgehalt des Holzes

Betrachtet man Tierwachstum und Stickstoffgehalt in den verschieden alten Kiefernhölzern (siehe Tab. 2 und 8), so läßt sich ein Zusammenhang zwischen den beiden Größen überhaupt nicht erkennen. Die Korrelationsanalyse bestätigt diesen Eindruck, denn der resultierende, positive Korrelationskoeffizient von $r = 0,61$ liegt weit unterhalb des Signifikanzniveaus für 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ($r = 0,878$), d.h., es besteht keine Abhängigkeit der Larvenentwicklung vom Stickstoffgehalt des Holzes. Dies wird auch durch Abb. 4 deutlich, und beweist, daß die Stickstoffwerte verschieden alter Hölzer nicht als Gradmesser für den Nahrungswert angesehen werden können.

3.5.2. Proteingehalt des Holzes

Wachstumsraten und Proteinwerte der fünf Holzaltersstufen deuten dagegen auf eine Korrelation der beiden Größen hin, denn die höchste Entwicklungsgeschwindigkeit findet sich im proteinhaltigsten Holz, während das proteinärmste Versuchsholz die niedrigste Wachstumsbeschleunigung verursacht, und die proteingleichen Proben zu übereinstimmenden Gewichtszunahmen führen (siehe Tab. 2 und 8). Die Korrelationsanalyse ergibt einen positiven Korrelationskoeffizienten von $r = 0,98$, der mit besser als 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit von Null verschieden ist ($r = 0,958$), d.h., es besteht eine direkte Abhängigkeit der Larvenentwicklung vom Proteingehalt des Holzes. Werden die Wachstumswerte gegen die entsprechenden Proteinwerte graphisch aufgetragen (Abb. 4), so resultiert eine Gerade, deren Steigung und Abszissenschnittpunkt mit Hilfe der Regressionsanalyse berechnet wurde. Der Schnittpunkt der Geraden liegt bei 1,1 mg Protein/g T.G. Holz, d.h., ein Proteingehalt von 0,11 % ist als untere Entwicklungs-

Grenze der Hausbocklarven anzusehen. Dieser Wert ist niedriger, als der von BECKER (1963 b) angegebene Wert von 0,2 %, der allerdings durch Umrechnung des entsprechenden Stickstoffwertes mit dem Faktor 6,25 erhalten wurde, in der Annahme, daß sämtlicher Holzstickstoff als Proteinstickstoff vorliegt. Dies ist jedoch, wie die vorliegenden Resultate der Holzanalysen ergeben haben, (siehe 2.2.) nicht der Fall.

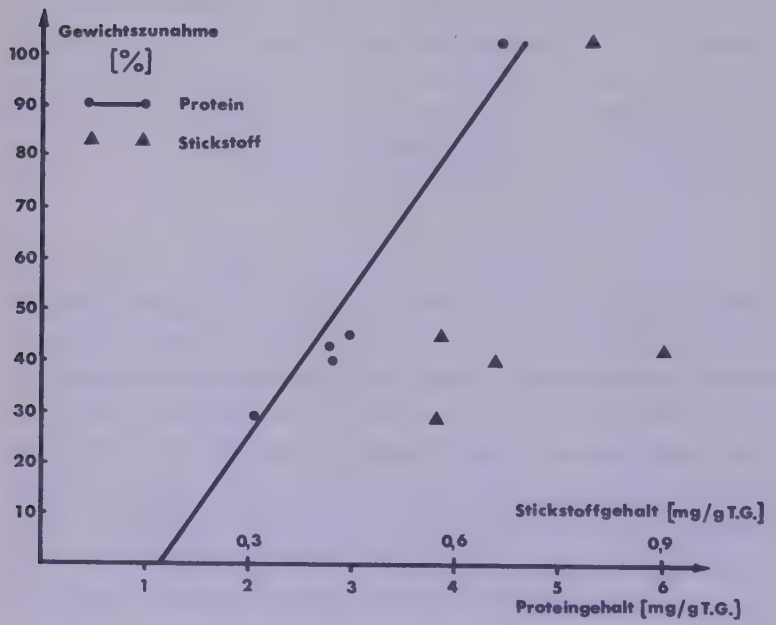


Abb. 4 Entwicklung von Hausbocklarven in Abhängigkeit vom Stickstoff- und Proteingehalt verschieden alter Kiefernhölzer

Anhand der in Abb. 3 (siehe S. 43) dargestellten Kurve läßt sich der Proteinstickstoffanteil des von BECKER verwendeten 3 - 10 Jahre alten Kiefernholzes mit etwa 75 % am Gesamtstickstoff bestimmen. So reduziert sich der als untere Entwicklungsgrenze von BECKER (1963 b) angegebene Wert von 0,2 % auf etwa 0,15 % und stimmt damit recht gut mit dem hier ermittelten Proteingrenzwert überein.

Die bisherigen Korrelationsanalysen haben gezeigt, daß die Entwicklung von Hausbocklarven in verschieden alten Kiefernhölzern nur vom Protein-, nicht aber vom Stickstoffgehalt der Proben abhängt. Die Untersuchungen von BECKER (1963 b) über das Larvenwachstum in Abhängigkeit eines im Stammquerschnitt einer Kiefer von außen nach innen kontinuierlich abnehmenden Stickstoffgehaltes führten jedoch ebenfalls zu einer positiven Korrelation. Dies erscheint nur im ersten Moment widersprüchlich, denn die zugrunde gelegten Holzproben waren hier verschieden alt, dort gleich alt. Innerhalb der gleich alten Holzabschnitte eines Stammquerschnittes scheint der prozentuale Anteil des Proteinstickstoffes am Gesamtstickstoff konstant zu sein, so daß in diesem Fall auch die Stickstoffwerte mit den Wachstumswerten korrelieren.

Werden die Proteinwerte der peptongetränkten Hölzer in die Korrelationsanalyse miteinbezogen, resultiert ein positiver Korrelationskoeffizient von $r = 0,49$, der weit unter dem Signifikanzniveau von 5 % ($r = 0,754$) liegt. In diesem Fall besteht keine Korrelation zwischen den untersuchten Größen.

Dies verwundert allerdings nicht, denn die Gewichtszunahmen in den peptongetränkten Versuchshölzern liegen unter dem Gewichtszuwachs des jüngsten Holzes, obwohl der Proteingehalt das Drei- bis Vierfache beträgt (siehe Tab. 2 und 8). So zeigt sich, daß die absoluten Proteinwerte der Holznahrung durchaus nicht immer mit dem Larvenwachstum korrelieren, vor allem dann nicht, wenn eine unterschiedliche Fraßtätigkeit der Tiere zu beobachten ist (siehe 3.2.).

Hier kann als Bezugsgröße nicht der absolute Proteingehalt des Holzes, sondern muß die tatsächlich aufgenommene Proteinmenge zugrunde gelegt werden.

3.5.3. Proteinaufnahme

Die von den Hausbocklarven aufgenommenen, rechnerisch ermittelten Proteinmengen sind in Tab. 7 aufgeführt. Zwar finden sich - wie bei den absoluten Proteinwerten der Hölzer - die höchsten Werte bei den peptongetränkten Proben, diese haben aber gegenüber den Werten des frischesten Futterholzes nicht mehr die drei- bis vierfache Höhe, sondern liegen nur noch knapp darüber. Die aufgenommenen Proteinmengen der übrigen Versuchstiere sind erwarteterweise niedriger und unterscheiden sich nicht nennenswert voneinander.

Die Korrelationsanalyse zwischen den Wachstumswerten der Tiere und den aufgenommenen Proteinmengen der unbehandelten Hölzer ergibt einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,99$. Dies ist ein Wert, der weit über dem Signifikanzniveau von 1 % ($r = 0,958$) und auch noch etwas höher als das bei der Korrelationsanalyse zwischen Tierwachstum und absolutem Proteingehalt resultierende r von 0,98 liegt, d.h., daß eine noch direktere Beziehung als zwischen den letztgenannten Größen besteht (Abb. 5).

Die Korrelationsanalyse zwischen Wachstumswerten und aufgenommenen Proteinmengen führt unter Einbeziehung auch der Werte der peptongetränkten Proben nur zu einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,84$, der zwar über dem Signifikanzniveau von 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit ($r = 0,754$), aber unter dem Signifikanzniveau von 1 % ($r = 0,874$) liegt. Dies sagt aus, daß der Korrelationskoeffizient nur schwach signifikant von Null verschieden, d.h., nur eine schwache Beziehung vorhanden ist. Abb. 5 verdeutlicht dies, denn eine alle Punkte verbindende Gerade ist nicht möglich (daher gestrichelt dargestellt). Immerhin existiert gegenüber den absoluten Proteinwerten

der Hölzer schon ein schwach gesicherter Zusammenhang der beiden Größen.

Wenn trotz höherer Proteinaufnahme eine geringere Entwicklungsgeschwindigkeit der Tiere zu beobachten ist, so weist dies darauf hin, daß der Peptonzusatz einen ungünstigeren Nahrungswert haben muß. Daß dies wahrscheinlich der Fall ist, geht schon aus den Aminosäurespektren hervor (siehe 2.3.2.), denn der Anteil der essentiellen Aminosäure Threonin ist signifikant geringer als im Holzprotein. Somit könnte Threonin den Nahrungswert des Peptons bezüglich der Entwicklung der Hausbocklarven limitieren.

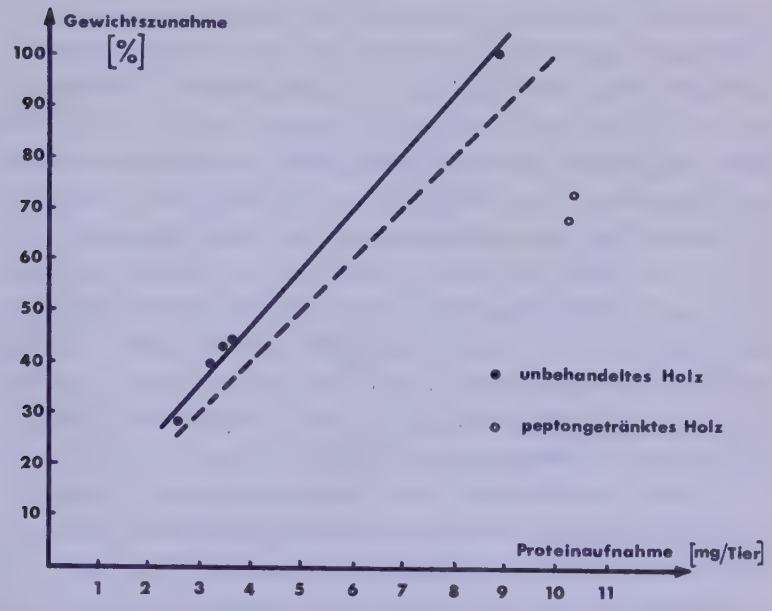


Abb. 5 Entwicklung von Hausbocklarven in verschieden alten Kiefernhölzern in Abhängigkeit von der aufgenommenen Menge an Protein.

——— unbehandeltes Holz

– – – – unbehandeltes + peptongetränktes Holz

3.5.4. Aminosäureaufnahme

Die aufgenommenen Aminosäuremengen wurden rechnerisch bestimmt und sind in Tab. 10 aufgeführt. Daraus ist zu ersehen, daß in den peptongetränkten Holzproben, gegenüber dem jüngsten Versuchsholz, geringere Mengen an essentiellen Aminosäuren nur von Threonin aufgenommen wurden. Eine direkte Abhängigkeit des Tierwachstums von der Threoninaufnahme wird somit deutlich sichtbar. Dies zeigt auch Abb. 6, in der die Larvenentwicklung gegen die konsumierten Threoninmengen aufgetragen ist, wobei die Steigung der Geraden mit Hilfe der Regressionsrechnung ermittelt wurde. Korrelationsanalysen zwischen Tierwachstum und jeweils aufgenommenen Aminosäuremengen führten zu den in Tab. 10 aufgeführten Korrelationskoeffizienten. Daraus geht hervor, daß bezüglich der essentiellen Aminosäuren eine hochsignifikante Korrelation nur zwischen der Larvenentwicklung und Threoninaufnahme besteht, der Korrelationskoeffizient liegt mit $r = 0,98$ weit über dem Signifikanzniveau von 1 % ($r = 0,874$). Der Korrelationskoeffizient für Valin befindet sich mit $r = 0,873$ allerdings nur knapp unterhalb dieser Signifikanzschwelle.

Die nur schwach signifikante Korrelation zwischen Tierwachstum und Proteinaufnahme, sowie die hochsignifikante Korrelation zwischen Tierwachstum und Threoninaufnahme sind der eigentliche Beweis dafür, daß Threonin den Nahrungswert von Peptonum sicco e caseino hinsichtlich der Entwicklung von Hylotrupes bajulus limitiert.

Es bleibt noch zu klären, ob der mit fortlaufendem Holzalter schwach signifikant beschleunigte Abbau von Arginin eine Limitierung des Nahrungswertes für die Hausbockentwicklung zur Folge hat. Korrelationsanalysen zwischen Tierwachstum und Aminosäureaufnahme in den unbehandelten Hölzern führten in allen Fällen zu positiven Korrelationskoeffizienten, die mit Werten von r zwischen 0,97 und 0,99 stets über dem Signifikanzniveau von 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit ($r = 0,958$) lagen. Eine Nahrungswertbegrenzung durch Arginin läßt sich daher nicht feststellen. Die Aminosäureanalysen der Holzproben hatten auch nur

Tab. 10 Aminosäureaufnahme von Hausbocklarven in verschieden alten Kiefernsplinthölzern. Die Werte wurden aus den jeweiligen Mittelwerten von Proteinaufnahme (mg/Tier) und Aminosäureanteilen (Mol %) berechnet, daher ist keine Standardabweichung angegeben. Mitaufgeführt sind die zwischen Tierwachstum und Aminosäureaufnahme resultierenden Korrelationskoeffizienten r und die Signifikanz der Korrelation.

Holzalter	Aminosäureaufnahme [mg / Tier]															
[Jahre]	ASP	THR	SER	GLU	PRO	GLY	ALA	VAL	MET	ILE	LEU	TYR	PHE	HIS	LYS	ARG
0,8	0,94	0,60	0,61	1,03	0,47	0,51	0,65	0,59	0,18	0,50	0,73	0,17	0,41	0,17	0,52	0,51
1,5	0,43	0,29	0,25	0,42	0,27	0,20	0,27	0,24	0,07	0,22	0,32	0,07	0,20	0,09	0,23	0,20
18	0,34	0,27	0,21	0,38	0,21	0,20	0,26	0,25	0,06	0,20	0,26	0,09	0,18	0,06	0,21	0,18
60	0,27	0,20	0,19	0,30	0,16	0,15	0,19	0,21	0,05	0,15	0,20	0,04	0,13	0,05	0,16	0,13
100	0,36	0,24	0,27	0,41	0,23	0,19	0,25	0,25	0,06	0,20	0,29	0,08	0,18	0,06	0,22	0,11
60 + Pepton	0,94	0,47	0,65	1,99	1,23	0,28	0,35	0,64	0,25	0,52	0,80	0,19	0,49	0,21	0,65	0,58
100 + Pepton	0,96	0,49	0,65	1,98	1,18	0,34	0,42	0,63	0,24	0,61	0,77	0,20	0,47	0,20	0,60	0,56
r	0,91	0,98	0,88	0,65	0,57	0,98	0,98	0,87	0,76	0,86	0,86	0,85	0,84	0,83	0,83	0,86
Signifikanz	+++	+++	+++	-	-	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+++ hochsignifikant, + schwach signifikant, - nicht signifikant

zu schwach abgesicherten Unterschieden in den Argininanteilen geführt und ließen, wenn überhaupt, einen erhöhten Abbau erst in hohen Lagerungsjahren sichtbar werden. Endgültige Aussagen sind somit erst nach entsprechenden Untersuchungen mit noch älterem Holzmaterial, und vor allem erst nach Bestimmungen an mehreren Holzproben pro Altersstufe möglich.

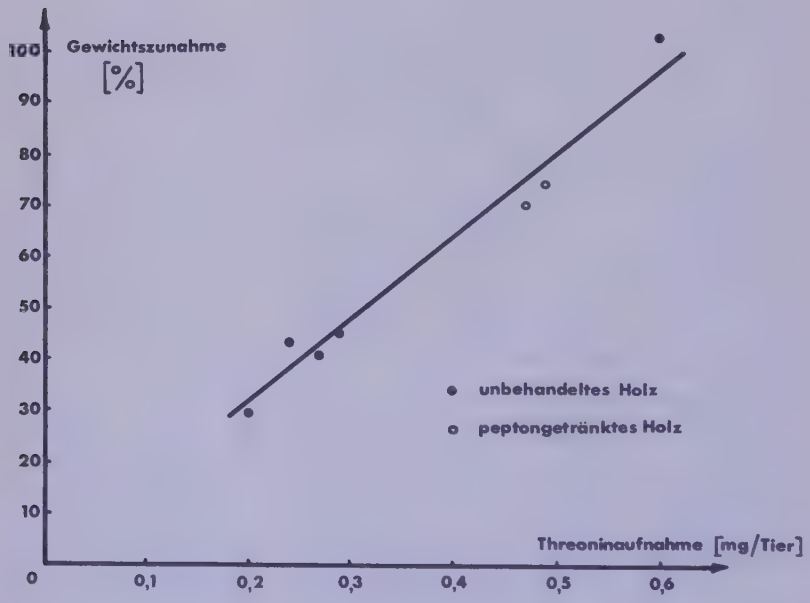


Abb. 6 Entwicklung von Hausbocklarven in verschieden alten Kiefernhölzern in Abhängigkeit von der aufgenommenen Menge an Threonin.

4. Protein- und Aminosäurehaushalt der Hausbocklarven

4.1. Stickstoff-, Protein- und Aminosäuregehalt

Die Mittelwerte für den Gehalt an Stickstoff, proteingebundenen und freien Aminosäuren der Hausbocklarven in verschieden alten Kiefernhölzern sind in Tab. 11 wiedergegeben. Die Werte für die proteingebundenen Aminosäuren erscheinen mit ca. 14 - 18 % v. T.G. etwas niedrig und liegen auch unterhalb der Größenordnung von 20 - 25 %, wie sie bei anderen Insekten, Z. B. Phormia regina (LEVENBOOK und DINAMARCA 1966 a), Trogoderma granarium (KARNAVAR und NAIR 1969), oder Coptotermes formosans (MAULDIN und SMYTHE 1973) ermittelt wurde. Möglicherweise sind bei dem hier angewandten Verfahren zur Trennung und Reinigung der Proteine die Lipoproteine nicht vollständig erfaßt worden. Hoch dagegen sind mit 3 - 5 % v. T. G. die Werte für den freien Aminosäurepool. Dies ist jedoch nicht ungewöhnlich, im Gegenteil, ein hoher Gehalt an freien Aminosäuren in den Geweben ist charakteristisch für Insekten, wobei ein besonders hoher Gehalt in der Hämolymphe als biochemisches Klassenmerkmal angesehen wird (siehe FLORKIN 1959, WYATT 1961, GILMOUR 1961, 1965, LEVENBOOK 1962, CHEN 1962, 1966, BURSELL 1963, KIRSTEN et al. 1963, u. a.).

Ob die zu beobachtenden Differenzen der Werte zwischen den Versuchsserien rein zufälliger Natur sind und somit biologische Variabilität widerspiegeln, oder signifikante Unterschiede darstellen, wurde mittels Varianzanalysen getestet, wobei der Vergleich der Varianzen mit dem F-Test erfolgte. Dies führte in allen drei Fällen zu Werten von $p > 0,05$, d. h., die Varianzen innerhalb der Versuchsgruppen waren höher als zwischen den Gruppen. Die analysierten Stichproben müssen somit einer Grundgesamtheit und die auftretenden Abweichungen dem Zufall zugeschrieben werden.

Tab. 11 Stickstoff-, Protein- und Aminosäuregehalt der Hausbocklarven in Kiefernholz unterschiedlichen Alters und Proteingehalts.
Angegeben sind die Mittelwerte von je 5 - 7 Bestimmungen und die Standardabweichung s.
Mitaufgeführt sind die prozentualen Trockengewichtsanteile der Tiere.

Holzalter [Jahre]	$\frac{\text{Trockengewicht}}{\text{Frischgewicht}} \times 100$ [%]	Gesamtstickstoff [% v. T.G.]	s	Proteingebundene Aminosäuren [% v. T.G.]	s	Freie Aminosäuren [% v. T.G.]	s
0,8	30	6,0	±1,4	18	±2,8	3,9	±1,0
1,5	24	6,7	±0,9	19	±3,0	3,8	±1,2
18	25	5,1	±1,3	15	±3,7	4,1	±1,4
60	23	5,9	±1,1	16	±3,1	3,2	±1,1
100	24	6,0	±1,0	17	±3,4	4,6	±1,3
60 + Pepton	25	6,3	±1,0	18	±4,1	3,8	±1,1
100 + Pepton	22	7,0	±1,5	17	±3,6	5,0	±1,2

Auch hier waren, wie bei den Wachstumswerten, starke Streuungen der Einzelwerte zu verzeichnen. Diese sind möglicherweise über eine normale biologische Variabilität hinaus auf die nicht zu vermeidende Heterogenität des Tiermaterials bezüglich des Alters zurückzuführen, so daß sich die ausgewählten Larven vielleicht in verschiedenen Larvenstadien, oder zumindest verschiedenen Phasen innerhalb eines Stadiums befunden hatten.

Es wurde jedoch gezeigt, daß sich nicht nur der Proteingehalt einzelner Gewebe, wie z. B. der Hämolymphe, oder des Mitteldarms, oder des Fettkörpers in verschiedenen Larvenstadien, sogar innerhalb eines Larvenstadiums ändern kann (BUCK 1953, WYATT et al. 1956, GILBERT und SCHNEIDERMAN 1961, HUDSON 1966, CHIPPENDALE 1970, GREENE und DAHLMAN 1973), sondern auch der Gesamtgehalt an proteingebundenen Aminosäuren zu schwanken scheint (DURZAN und LOPUSHANSKI 1968). Bezüglich der freien Aminosäuren unterscheidet LEVENBOOK (1966) zwei Kategorien von Insekten. Bei der einen verändert sich im Laufe der Larvenentwicklung der Gesamtgehalt nicht, wie z. B. bei Ephestia kühniella (CHEN und KÜHN 1955), Culex pipiens (CHEN 1958 a) oder Spodoptera littoralis (BOCTOR und SALEM 1973). Dagegen ist z. B. bei Drosophila melanogaster (CHEN und HADORN 1954), Calliphora augur (HACKMAN 1956) oder Phormia regina (LEVENBOOK 1966) der Gehalt der freien Aminosäuren in verschiedenen Larvenstadien Schwankungen unterworfen.

Aufgrund der statistischen Analysen muß man folgern, daß die unterschiedliche Holznahrung keinen Einfluß zumindest auf den prozentualen Gehalt an Stickstoff, Proteinen und Aminosäuren der Tiere hatte. Die Wachstumsergebnisse haben ja schon erbracht, daß die hier zur Anwendung gekommenen verschiedenen Holzaltersstufen in keinem Fall eine Mangelnahrung dargestellt hatten, denn die Hausbocklarven vermochten sich, wenn auch in unterschiedlichem Maße, in allen Versuchshölzern zu entwickeln. Erst bei einem ungenügenden Proteinangebot, das bis zu Wachstumsstillstand oder gar zu

Gewichtsabnahme der Tiere geführt hätte, wäre ein Abbau der stickstoff- und proteinhaltigen Verbindungen zu erwarten gewesen. Entsprechende Befunde wurden an diversen Insekten, die eine stickstoff- bzw. proteinarme oder gar -freie Nahrung erhalten hatten, erzielt (BUTLER 1943, CHEN und HADORN 1955, CHEN 1958 b, BURSELL 1960, 1963, STRONG 1964).

Auch bei den Larven, die im jüngsten Holz gebohrt und die höchsten Proteinmengen konsumiert haben, ist kein erhöhter Stickstoff-, Protein- und Aminosäuregehalt zu beobachten, obgleich diese Tiere mit 30 % einen höheren Trockengewichtsanteil aufweisen (siehe Tab. 11). Ob sich dieser Wert signifikant von den ebenfalls in Tab. 11 aufgeführten Werten der übrigen Versuchstiere unterscheidet, wurde mit dem t-Test untersucht. Es resultierten stets p-Werte, die knapp unterhalb der Signifikanzgrenze von 0,05 lagen, d.h., es ist ein, wenn auch nur schwach signifikanter, Unterschied vorhanden. Die vermehrte Bildung von Trockensubstanz dieser Larven erfolgt jedoch offensichtlich nicht durch erhöhte Bildung von stickstoff- oder proteinhaltigem Material. Wahrscheinlich werden verstärkt Lipide im Fettkörper gespeichert.

4.2. Aminosäurespektren

4.2.1. Proteingebundene Aminosäuren

Die Aminosäurespektren der Larvenproteine sind in Tab. 12 wiedergegeben. Wie bei den Spektren der Holzproteine fehlen, aus den dort genannten Gründen, die Aminosäuren Asparagin, Glutamin und Cystein, und ist Ammoniak nicht mitaufgeführt. Korrigiert sind die Werte für Threonin, Serin und Tyrosin, jedoch nicht für Methionin, die somit in natura höher liegen. Zwei weitere Peaks auf den Chromatogrammen konnten nicht eindeutig identifiziert werden. Der als U.P. 2 bezeichnete Peak kann identisch sein mit Glucosamin,

Tab. 12 Spektren der proteingebundenen Aminosäuren von Hausbocklarven nach zwölfwöchiger Fraßdauer in verschieden altem Kiefernsplintholz.
Aufgeführt sind die Mittelwerte von Bestimmungen an jeweils 5 - 7 Larven.

Aminosäureanteile [Mol %]	Holzalter [Jahre]						
	0,8	1,5	18	60	100	60 + Pepton	100 + Pepton
ASP	10,0	9,8	10,1	10,1	10,3	10,0	9,7
THR	6,2	6,1	6,1	6,6	5,6	6,2	6,0
SER	6,9	7,2	7,1	7,0	7,0	7,5	7,5
GLU	12,2	11,3	12,1	12,5	12,8	12,1	12,4
PRO	6,4	6,4	6,4	6,5	6,8	6,5	6,6
GLY	8,3	9,0	8,6	8,6	8,5	8,9	8,4
ALA	6,6	7,2	6,9	7,1	7,3	6,4	7,1
VAL	6,1	6,9	6,3	6,8	6,7	6,4	6,7
MET	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,7	0,5
ILE	6,3	6,8	6,4	7,0	6,8	6,1	6,6
LEU	8,1	8,3	8,5	8,4	9,0	8,4	8,3
TYR	3,7	2,9	3,4	2,9	3,6	3,6	4,3
PHE	3,6	2,8	3,0	3,1	2,9	3,6	3,4
HIS	1,7	1,7	1,4	1,3	1,5	1,2	1,3
LYS	6,1	5,8	5,8	5,5	5,7	6,0	5,2
ARG	3,3	3,8	3,4	3,6	3,3	3,2	3,1
TRP	1,0	1,1	1,0	1,2	0,9	1,0	0,8
U.P.1	0,9	0,9	0,8	0,5	0,7	0,7	0,4
U.P.2	1,5	1,0	1,4	1,0	1,0	1,4	1,0

Hydrolyseprodukt von Chitin, oder β-Alanin, eventuell sind in ihm beide Verbindungen enthalten, die sich bei dem hier angewandten Einsäulenverfahren vollständig auf dem Chromatogramm überlappen. β-Alanin zählt zwar nicht zu den zwanzig universellen Aminosäuren, wurde aber auch in den Proteinhydrolysaten von Phormia regina (LEVENBOOK und DINAMARCA 1966 b) gefunden und als Bestandteil der Cuticularproteine nachgewiesen (HENRY und COOK 1964, KARLSON et al. 1969).

Aus Tab. 12 geht deutlich hervor, daß keine Unterschiede zwischen den Spektren bestehen. Nicht nur die Proteine der Hausbocklarven, die in unbehandelten Kiefernhölzern gefressen haben, zeigen die gleiche Aminosäurezusammensetzung, sondern auch die Proteine der Tiere aus den peptongetränkten Holzproben stimmen mit diesen überein. Sogar das unterschiedliche Larvenalter zeigte keinen Einfluß auf die Zusammensetzung der proteingebundenen Aminosäuren, denn selbst innerhalb der Versuchsserien wiesen die Spektren keine nennenswerten Unterschiede auf. Der statistische Vergleich der Varianzen der Aminosäuremittelwerte führte zu keinen signifikanten Unterschieden, d.h., das Stichprobenmaterial ist in sich homogen. Eine Mittelwertbildung über alle Holzaltersklassen ist daher berechtigt (Tab. 13).

Dies bedeutet, daß nicht nur der prozentuale Gehalt der Larvenproteine, sondern auch deren Aminosäurezusammensetzung durch das quantitativ und qualitativ unterschiedliche Proteinangebot unbeeinflußt blieb. Gegensätzlich dazu fanden DURZAN und LOPUSHANSKI (1968) differierende Proteinspektren bei den Larven von Choristoneura fumiferana, die auf drei verschiedenen Coniferen gefressen hatten. Allerdings traten nur bei drei Aminosäuren, davon zwei essentiellen und dort nur schwach signifikant, statistisch abgesicherte Unterschiede auf.

Die Autoren führen dies auf kontinuierliche, saisonale und diurnale Schwankungen im Aminosäurespiegel der Wirtspflanzen zurück,

Tab. 13 Spektren der proteingebundenen und freien Aminosäuren von Hausbocklarven nach zwölfwöchiger Fraßdauer in verschieden altem Kiefernholz.
Aufgeführt sind die Mittelwerte aller Holzaltersstufen und die Standardabweichung s .

Aminosäure	Proteingebundene Aminosäuren [Mol %]	s	Freie Aminosäuren [Mol %]	s
ASP	10,0	± 0,45	2,9	± 1,31
THR	6,1	± 0,60	2,9	± 0,82
SER	7,2	± 0,43	3,2	± 1,04
GLU	12,2	± 0,76	5,9	± 1,72
PRO	6,5	± 0,58	37,2	± 5,35
GLY	8,8	± 0,76	1,9	± 0,54
ALA	6,9	± 0,43	15,1	± 3,48
VAL	6,6	± 0,47	5,4	± 0,69
CYS	-	-	0,2	± 0,11
MET	0,5	± 0,22	0,3	± 0,10
ILE	6,5	± 0,55	3,6	± 0,92
LEU	8,8	± 0,44	2,4	± 0,83
TYR	3,4	± 0,63	4,2	± 1,57
PHE	3,1	± 0,37	1,6	± 0,50
HIS	1,4	± 0,26	2,1	± 0,61
LYS	5,7	± 0,54	6,3	± 1,02
TRP	1,0	± 0,24	0,6	± 0,26
ARG	3,6	± 0,46	3,8	± 0,66
TAU	-	-	0,5	± 0,24
ORN	-	-	0,4	± 0,23
U. P. 1	0,8	± 0,28	0,5	± 0,25
U. P. 2	1,2	± 0,34	0,6	± 0,47

wobei hohe Schwankungen speziell im Gehalt der essentiellen Aminosäuren dafür verantwortlich sein könnten. Jedoch auch Untersuchungen der Larvenproteine von Anobium punctatum, die in sehr unterschiedlichen Hölzern gebohrt hatten, ergaben keine Unterschiede in den Proteinspektren (ADELSBERGER unveröffentlicht). Obgleich das verwendete Eichensplintholz sehr viel proteinhaltiger war als das angebotene Kiefernsplintholz und eine abweichende Aminosäurezusammensetzung - auch bezüglich der essentiellen - aufwies, blieben Gehalt und Spektrum der Larvenproteine davon unberührt (siehe Tab. 14). Dies könnte hier freilich auf die Tätigkeit der in den Anobienlarven nachgewiesenen Hefesymbionten zurückzuführen sein, von denen nicht bekannt ist, inwieweit sie in den Aminosäurestoffwechsel der Larven eingreifen. Versuche mit Termiten (Coptotermes formosans), denen die Symbionten entzogen waren, haben allerdings ergeben, daß sie ihren normalen Proteinbestand auch ohne die Bakterien und Protozoen aufrechterhalten können (MAULDIN und SMYTHE 1973).

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen wurde gezeigt, daß weder ein unterschiedliches Larvenalter, noch ein quantitativ und qualitativ differierendes Proteinangebot in der Nahrung einen Effekt auf das Spektrum der proteingebundenen Aminosäuren der Tiere ausübte. Dies trifft sowohl für die symbiontentragenden Anobienlarven, wie für die symbiontenfreien Hausbocklarven zu. Man kann annehmen, daß, solange die Tiere überhaupt eine Entwicklung zeigen, die unterschiedliche Nahrung sich eher auf die Wachstumsgeschwindigkeit als auf die Proteinzusammensetzung auswirkt. So limitierte der signifikant geringere Threoninanteil des konsumierten Peptonholzes zwar die Entwicklungsgeschwindigkeit der Hausbocklarven (siehe 3.5.4.), hatte aber keinen Einfluß auf das Aminosäurespektrum der Proteine (Tab. 12). Unterschiede in den Proteinspektren von Tieren, die eine ausreichende, aber unterschiedliche Nahrung erhalten haben, sind daher wohl eher auf eine hohe biologische

Tab. 14 Proteinspektren der holzzerstörenden Larven von Hylotrupes bajulus, Anobium punctatum und Lyctus brunneus. Bei Hylotrupes sind die Mittelwerte von 7 Tieren, bei Anobium und Lyctus die Mittelwerte von jeweils parallelen Bestimmungen an gepooltem Material (10 - 20) Tiere angegeben.

Aminosäureanteile [Mol %]	Holzart / Insekt: Kiefer / Hylotrupes	Kiefer / Anobium	Eiche / Anobium	Eiche / Lyctus
ASP	10,0	9,7	9,8	9,9
THR	6,2	6,2	6,0	6,8
SER	6,9	6,7	6,6	6,5
GLU	12,2	12,0	12,1	12,1
PRO	6,4	5,9	6,7	6,2
GLY	8,3	8,9	8,6	7,4
ALA	6,6	6,5	6,9	6,4
VAL	6,1	6,5	6,4	6,4
MET	0,6	0,6	0,5	0,5
ILE	6,3	5,6	6,1	6,4
LEU	8,1	8,4	8,0	8,4
TYR	3,7	5,7	5,9	5,9
PHE	3,6	3,8	4,2	3,9
HIS	1,7	1,4	1,3	1,2
LYS	6,1	6,6	5,1	6,1
ARG	3,3	3,0	3,4	3,8
TRP	1,0	0,9	0,8	1,0

Das Lagerungsalter der verwendeten Hölzer betrug jeweils 0,8 Jahre.

Heterogenität des Untersuchungsmaterials zurückzuführen. Aus Tab. 14 geht weiterhin hervor, daß auch die Proteinspektren der verwandten Hylotrupes-, Anobien- und Lyctuslarven eine hohe Übereinstimmung aufweisen.

4.2.2. Freie Aminosäuren

In Tab. 15 sind die Spektren der freien Aminosäuren wiedergegeben. Mit Ausnahme von Asparagin und Glutamin, die beim Einsäulenverfahren auf dem Analyzer nicht getrennt erfaßt und wahrscheinlich in den Peaks anderer Aminosäuren enthalten sind, konnten alle Proteinaminosäuren auch im freien Aminosäurepool der Hausbocklarven nachgewiesen werden. Daneben wurden Taurin und Ornithin gefunden. Nicht eindeutig identifizieren ließen sich zwei weitere, kleinere Peaks auf den Chromatogrammen. U. P. 1 könnte Methioninsulfoxid, U. P. 2 Glucosamin bzw. β-Alanin (siehe 4. 2. 1.) sein. Diese sogenannten "seltenen" Aminosäuren sind neben weiteren im freien Aminosäurepool diverser Insekten nachgewiesen worden (siehe CHEN 1966).

Die zu den in Tab. 15 angegebenen Mittelwerten führenden Einzelwerte streuen außerordentlich hoch, daher ist der Streuungsbereich, der in dieser Größenordnung innerhalb jeder Versuchsgruppe auftritt, mit in die Tabelle aufgenommen. Die starken Abweichungen der Aminosäurewerte sind wahrscheinlich wiederum, über eine biologische Heterogenität hinaus, auf das unterschiedliche Alter der Tiere zurückzuführen, die sich zumindest in verschiedenen Phasen eines Larvenstadiums befunden hatten. Im Laufe der Larvenentwicklung kann sich nicht nur der Gesamtgehalt, sondern auch das Spektrum der freien Aminosäuren ändern, bei diversen Insekten findet man beides. Eine allgemeingültige Regel gibt es nicht (siehe CHEN 1966). Für LEVENBOOK und DINAMARCA (1966 b) sind allerdings Schwankungen im Gehalt einzelner Aminosäuren während der Larven-

Tab. 15 Spektren des freien Aminosäurepools von Hausbocklarven nach zwölfwöchiger Fraßdauer in verschiedenen Kiefernsplinthölzern. Angegeben sind die Mittelwerte von je 5 - 7 Tieren.

Aminosäureanteile [Mol %]	Holzalter [Jahre] 0,8	1,5	18	60	100	60 + Pepton	100 + Pepton	Extrema der Einzelwerte
ASP	1,9	2,8	3,2	2,6	2,1	3,7	3,6	1,2 - 4,9
THR	3,0	3,2	2,7	2,1	3,5	2,2	2,0	1,8 - 3,7
SER	2,7	4,1	3,9	3,0	2,8	4,0	3,1	2,2 - 4,9
GLU	4,7	5,2	5,6	4,1	7,0	7,1	6,3	3,6 - 8,7
PRO	37,9	34,3	33,0	38,2	40,2	30,5	31,9	29,5 - 49,3
GLY	1,9	2,2	2,3	1,5	1,6	2,4	1,9	1,3 - 2,6
ALA	16,5	17,5	15,9	13,9	16,7	14,7	16,0	11,7 - 19,4
VAL	5,1	5,8	5,8	4,2	4,4	4,9	5,6	4,0 - 6,1
CYS	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,09- 0,4
MET	0,3	0,3	0,4	0,3	0,2	0,5	0,3	0,2 - 0,6
ILE	2,8	3,8	3,9	3,8	3,3	3,2	2,9	2,6 - 4,8
LEU	2,0	2,7	2,8	2,4	2,0	3,4	3,1	1,8 - 3,7
TYR	4,1	3,4	4,6	4,1	3,5	5,7	5,1	2,4 - 7,7
PHE	1,3	1,6	1,5	1,6	1,8	2,2	1,9	1,0 - 2,8
HIS	2,2	2,2	2,0	1,6	2,0	2,0	1,9	1,5 - 2,9
LYS	6,1	6,3	5,4	6,0	6,9	7,1	7,0	5,1 - 7,4
TRP	0,7	0,7	0,3	0,6	0,6	0,4	0,7	0,3 - 1,0
ARG	3,6	4,0	3,6	3,7	3,9	4,2	4,3	2,7 - 4,6
TAU	0,5	0,5	0,6	0,4	0,4	0,3	0,5	0,2 - 0,8
ORN	0,4	0,4	0,6	0,3	0,5	0,4	0,3	0,2 - 0,7
U.P. 1	0,4	0,6	0,4	0,5	0,4	0,4	0,6	0,3 - 0,7
U.P. 2	0,6	0,6	0,5	0,7	0,6	0,3	0,4	0,2 - 0,7

Entwicklung meist nur auf eine hohe biologische Variabilität zurückzuführen, vor allem da die homöostatischen Mechanismen bei den freien Aminosäuren relativ schwach sind (ebenda, FLORKIN 1959).

Auch die Aminosäuremittelwerte weisen z. T. recht beachtliche Differenzen auf, wie aus Tab. 15 ersichtlich ist. Dies ist weit weniger bei den essentiellen Aminosäuren, deren Gehalt natürlich weit mehr durch die Nahrung limitiert wird, als bei den nicht-essentiellen zu beobachten. Dabei läßt sich irgendein Zusammenhang zu der unterschiedlichen Holznahrung nicht erkennen. Varianzanalysen zwischen den jeweiligen Aminosäuremittelwerten ergaben stets höhere Varianzen innerhalb, als zwischen den Versuchsgruppen, und führten in keinem Fall zu signifikanten Unterschieden. Daher wurden auch hier die Mittelwerte aller Holzaltersklassen gebildet (Tab. 13).

Daraus könnte man folgern, daß die verschiedenen Holzaltersstufen, einschließlich der peptongetränkten, keinen Einfluß auf den Gehalt und die Zusammensetzung des freien Aminosäurepools von Hylotrupes hatten. Endgültige Aussagen darüber sind mit dem vorhandenen Untersuchungsmaterial jedoch nicht möglich, da bei solch hohen Streuungen der Einzelwerte ein weitaus größeres Zahlenmaterial zur Mittelwertbildung herangezogen werden müßte. Allerdings wiesen die Larven von Sphinx ligustri, die auf drei verschiedenen Wirtspflanzen gezüchtet wurden, ebenfalls keine Unterschiede im Aminosäurespektrum der Hämolymphe auf (DUCHÂTEAU und FLORKIN 1955). Auch LEVENBOOK und DINAMARCA (1966 b) konnten keinen Einfluß der Nahrung auf den freien Aminosäurepool der Imagines von Aedes aegypti feststellen, obgleich die Tiere ein sehr unterschiedliches Futter, wie insteriles Pferdefleisch zum einen und eine sterile synthetische Diät zum anderen erhalten hatten. Gegensätzlich dazu fand VILLENEUVE (1962), daß die Konzentration der meisten Hämolymphaminosäuren bei Larven von Agria affinis nach Fleischnahrung höher war, als nach steriler synthetischer Diät. Auch die Larven von Choristoneura fumiferana (DURZAN und LOPUSHANSKI 1968) reagierten

auf verschiedenen Coniferen mit differierenden Aminosäurespektren. Ob, und inwieweit, eine unterschiedliche Nahrung den Gehalt und die Zusammensetzung des freien Aminosäurepools beeinflußt, läßt sich, wie die konträren Ergebnisse gezeigt haben, nicht pauschal beantworten. Für LEVENBOOK und DINAMARCA (1966 b) gibt es a priori keinen Grund zu der Annahme, daß selbst vergleichbare Änderungen in der Nahrung zwangsweise die gleichen biologischen Effekte in den verschiedenen Spezies hervorrufen.

Zwei Aminosäuren ragen mit deutlichem Abstand aus dem Spektrum der Hausbocklarven hervor: Prolin mit Anteilswerten von 30 - 40 %, und Alanin mit etwas geringeren Werten von 10 - 20 %. Das selektive Akkumulieren von ein bis drei Aminosäuren, unabhängig von der Nahrung, ist bei Insekten nicht ungewöhnlich und auch bei anderen Wirbellosen zu finden (IRREVERRE und LEVENBOOK 1960, WYATT 1961, BENASSI et al. 1961, CHEN 1966, u. a.) Häufig dominieren wie hier Prolin und Alanin, so z. B. bei Glossina morsitans (BURSELL 1963), Neodiprion pratti (DURZAN und LOPUSHANSKI 1968), oder Aedes aegypti (STIDHAM und LILES 1969, THAYER und TERIZAN 1970).

Prolin zählt grundsätzlich zu den Aminosäuren, die mit hohem Gehalt in der Insektenhämolymphe vertreten sind (siehe FLORKIN 1959, CORRIGAN 1970) und ist die Aminosäure, bei der die bisher höchsten Konzentrationen ermittelt wurden, z. B. über 50 Mol% in den Larven von Rhodnius prolixus (BARRETT 1974), und in den Eiern von Aulocara elliotti (BUNDE und PEPPER 1968), sowie mit knapp über 40 Mol % in den Puppen von Antheraea pernyi (MANSINGH 1967).

Es ist anzunehmen, daß die Aminosäuren der Insektenhämolymphe ganz allgemein als Substratreserve für den energieliefernden Stoffwechsel angesehen werden können (siehe URICH unveröffentlicht). Nachgewiesen wurde dies für Prolin und Alanin (siehe BURSELL 1963, 1966, CHEN 1966, CORRIGAN 1970). Bei diversen Insekten dient Prolin vor allem als Reservoir oxidierbaren Kohlenstoffs während

Perioden relativer Anaerobiose, wie sie für intensive Muskeltätigkeit, z. B. beim Flug charakteristisch sind (siehe CORRIGAN 1970). Nach der Annahme von WHITE et al. (1964) sowie STIDHAM und LILES (1969) kann Alanin, über seine Funktion als wichtige Substratreserve des Citratzyklus hinaus, bei manchen Insekten die zentrale Rolle im Stoffwechsel einnehmen, die im Säugermetabolismus der Glutaminsäure vorbehalten ist.

Abschließend läßt sich feststellen, daß zwischen der Aminosäurezusammensetzung von Protein und freiem Aminosäurepool der Hausbocklarven kaum eine Beziehung zu erkennen ist. Dies wurde auch für Aedes aegypti (THAYER und TERIZAN 1970) und Phormia regina (LEVENBOOK und DINAMARCA 1966 a) demonstriert und weist darauf hin, daß die Proteinaminosäuren nicht wesentlich zum freien Aminosäurepool beitragen (ebenda).

4. 3. Aminosäuren in den Faeces

Aminosäuren in den Faeces der Insekten sind nicht die Regel, (CRAIG 1961), allerdings gibt es darüber nicht sehr viele Untersuchungen. So nimmt BURSELL (1967) an, daß es sich in den meisten Fällen eher um einen Aminosäureverlust, als um eine echte Exkretion handelt. RAMSAY (1958) konnte zwar zeigen, daß bei Dixippus morosus Aminosäuren aus der Hämolymphe in die Malphigischen Gefäße durch passive Diffusion aufgenommen werden, vermutet aber, daß der größte Teil im Rectum reabsorbiert wird. Nachgewiesen wurden freie Aminosäuren und auch Proteine in den Exkrementen von z. B. Tineola bisselliella und Atagenus piceus (POWNING 1953), diversen Mosqitos (IRREVERRE und TERIZAN 1959), Anthonomus grandis (MITLIN et al. 1964) und Periplaneta americana (MULLINS et al. 1973). Meist wird jedoch mikrobiologische Aktivität dafür verantwortlich gemacht.

Exkretion ist definitionsgemäß der Prozeß, durch den ein Organismus durch Eliminieren überschüssiger Stoffwechselprodukte seinen

inneren physiologischen Zustand aufrecht erhält. Es ist daher anzunehmen, daß Aminosäuren hauptsächlich dann als solche aktiv ausgeschieden werden, wenn sie in der Nahrung im Überfluß vorhanden sind (siehe CRAIG 1961). Für die von den Hausbocklarven konsumierte Holznahrung trifft das Gegenteil zu; Aminosäuren in den Faeces der Tiere sind daher, außer durch Verlust, nicht zu erwarten. Es läßt sich anhand der vorliegenden Daten nicht feststellen, ob es sich um Exkretion im Sinne der Definition handelt, da der Kot zu 70 % aus unverwertetem Holz besteht (siehe 3.3.) und somit exakt dessen Aminosäurezusammensetzung widerspiegelt. Da die Spektren der Faeces mit den Spektren des entsprechenden Holzes (siehe Tab. 3) übereinstimmen, wurde auf eine tabellarische Wiedergabe verzichtet.

Ein signifikanter Unterschied ist allerdings zu erkennen. Im Gegensatz zum Futterholz findet sich im Kot der Larven die Aminosäure Ornithin mit einem prozentualen Anteil am Gesamtaminosäuregehalt von immerhin 1 - 1,5 %. Da Ornithin auch im freien Aminosäurepool der Tiere auftritt, kann man auf Arginaseaktivität schliessen, die bei verschiedenen Spezies von Lepidopteren, Hymenopteren und Orthopteren (GARCIA et al. 1956) nachgewiesen wurde. Auch bei den Larven von Anobium punctatum konnte Ornithin in den Exkrementen bestimmt werden (BAKER et al. 1970, ADELSBERGER unveröffentlicht). Citrullin wurde weder bei den Hausböcken noch bei den Anobien gefunden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. In Abhängigkeit vom Lagerungsalter wurde für Kiefernsplintholz (Pinus sylvestris L.) der Stickstoff- und Proteingehalt, sowie die Proteinzusammensetzung bestimmt und der Einfluß auf Entwicklung, Verdauung, Protein- und Aminosäurehaushalt von Hausbocklarven (Hylotrupes bajulus L.) untersucht. Die beiden ältesten Holzproben wurden zusätzlich mit Peptonum sicco e caseino getränkt.
2. Der Proteingehalt des Holzes nimmt mit fortlaufendem Alter kontinuierlich ab (Tab. 2), dabei folgt der Abbau einer logarithmischen Funktion in Abhängigkeit von der Zeit (Abb. 3).
   Die Proteinzusammensetzung wird durch die Lagerung nicht beeinflußt (Tab. 3), eventuell wird in hohen Lagerungsjahren Arginin beschleunigt abgebaut.
   Diese Ergebnisse müssen allerdings unter dem Vorbehalt, daß pro Altersstufe nur eine Holzprobe zur Anwendung kam, betrachtet werden.
3. Die Hausbocklarven zeigen im jüngsten, proteinhaltigsten natürlichen Holz die höchste und in den ältesten, peptongetränkten Holzproben die niedrigste Fraßtätigkeit (Tab. 6). Konstant ist jedoch die Verwertung der Nahrung mit einem Verdaulichkeitskoeffizienten Vk von allerdings nur 25 %.
   Die Ausnutzung der nahrungswertbegrenzenden Holzproteine ist mit 45 bis 50 % ebenfalls nicht optimal (Tab. 7); dies erklärt mit die enorm hohen Fraßmengen.
4. Die Larvenentwicklung (Tab. 8) weist keine Korrelation zum Stickstoffgehalt, jedoch eine hochsignifikante zum Proteingehalt, sowie zu den aufgenommenen Proteinmengen der unbehandelten Hölzer auf (Abb. 4, 5). Zu den konsumierten Proteinmengen aller, einschließlich der peptongetränkten, Hölzer, besteht hingegen nur eine schwach signifikante Korrelation (Abb. 5). Hochsignifikant korrelieren hier Tierwachstum und Threoninaufnahme (Tab. 10, Abb. 6). Threonin stellt somit die nahrungswertlimitierende Aminosäure des verwendeten Peptons dar.
5. Der Gesamtgehalt an Stickstoff, Proteinen und freien Aminosäuren der Hausbocklarven wird durch das qualitativ und quantitativ unterschiedliche

Proteinangebot nicht beeinflußt (Tab. 11), und auch die Spektren der proteingebundenen Aminosäuren zeigen keine Reaktion (Tab. 12, 13).
Die Spektren des freien Aminosäurepools weisen nach der Statistik ebenfalls keine Unterschiede auf (Tab. 13, 15). Hier sind endgültige Aussagen aufgrund der zu hohen Streuungen der Einzelwerte jedoch nicht möglich.

6. In den Faeces und im freien Aminosäurepool der Tiere findet sich Ornithin. Dies läßt auf Arginaseaktivität schließen.

LITERATURVERZEICHNIS

ALLISON, F.E., MURPHEY, R.M., KLEIN, C.J.: Comparative rates of desomposition in soil of wood and bark particles of several species of pines.
Soil Sc. Soc. Am. Proc. 27, 309 - 312 (1963).

ANDERSON, E., PIGMAN, W.W.: A study of the inner bark and cambial zone of black spruce (Picea mariana B.S.P.).
Science (New York) 105, 601 (1947).

AUCLAIR, J.L.: The influence of dietary amino acids on the blood amino acids of the german cockroach, Blatella germanica L.
J. Insect. Physiol. 3, 127 - 131 (1959).

BAKER, J.M., LAIDLAW, R.A., SMITH, G.A.: Wood breakdown and nitrogen utilisation by Anobium punctatum Deg. feeding on scots pine sapwood.
Holzforschung 24, 45 - 54 (1970).

BARRETT, F.M.: Changes in the concentration of free amino acids in the haemolymph of Rhodnius prolixus during fifth instar.
Comp. Biochem. Physiol. 48 B, 241 - 250 (1974).

BECKER, G.: Zur Ernährungsphysiologie der Hausbockkäfer-Larven (Hylotrupes bajulus L.).
Naturwiss. 26, 462 - 463 (1938).

BECKER, G.: Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Hausbockkäfer-Larven.
Z. vergl. Physiol. 29, 315 - 388 (1942 a).

BECKER, G.: Beiträge zur Kenntnis des Hausbockkäfers.
Z. hyg. Zool. 34, 83 - 107, (1942 b).

BECKER, G.: Sinnesphysiologische Untersuchungen über die Eiablage des Hausbockkäfers.
Z. vergl. Physiol. 30, 253 - 299 (1944 a).

BECKER, G.: Der natürliche Schutz des Laubholzes gegen Hausbockkäferlarven und seine Ursache.
Z. angew. Entomol. 30, 391 - 417, (1944 b).

BECKER, G.: Beiträge zur Ökologie der Hausbockkäfer-Larven.
Z. ang. Ent. 31, 135 - 174 (1949).

BECKER, G.: Über den Eiweißgehalt von Nadelhölzern.
Holz als Roh- und Werkst. 20, 368 - 375 (1962).

BECKER, G.: Holzbestandteile und Hausbocklarvenentwicklung.
Holz als Roh- und Werkst. 21, 285 - 289 (1963 a).

BECKER, G.: Der Einfluß des Eiweißgehaltes von Holz auf das Hausbocklarven-Wachstum.
Z. ang. Ent. 52, 368 - 390 (1963 b).

BENASSI, C.A., COLOMBO, G., ALLEGRI, G.: Free amino acids of the haemolymph of Schistocerca gregaria Forsk..
Biochem. J. 80, 332 - 336 (1961).

BLETCHLY, J.D., FARMER, R.H.: Some investigations into the susceptibility of corsican and scots pines and of european oak to attack by the common furniture beetle, Anobium punctatum Deg. (Col. Anobiidae).
J. Inst. Wood Sci. 3, 1 - 20 (1959).

BOCTOR, I.Z., SALEM, S.J.: Free amino acids of the cottonleafworm Spodoptera littoralis boisduval larvae (Lepidoptera: Noctuidae).
Comp. Biochem. Physiol. 45 B, 785 - 790 (1973).

BOUMAN, J.: Das Kjeldahlverfahren zur Stickstoffbestimmung in Proteinen.
Chem. Werkb. 45, 655 - 665 (1949).

BRECHER, C.: Über eine neue Methode zur Titration des Ammoniaks bei der Mikro-Kjeldahlbestimmung.
Wien. klin. Wschr. 49, 1228 (1936).

BRENNER, M., NIEDERWIESER, A., PATAKI, G.: Aminosäuren und Derivate. In "Dünnschichtchromatographie" (Herausg. E. STAHL), S. 696 - 749. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1967.

BUCK, J.B.: Physical properties and chemical composition of insect blood. In "Insect Physiology" (Herausg. K. ROEDER), S. 147 - 190, New York: Wiley 1953.

BUNDE, D.E., PEPPER, J.H.: Biosynthesis and occurrence of free amino acids in the eggs of the grasshopper, Aulocara elliotti. J. Insect. Physiol. 14, 1635 - 1649 (1968).

BURSELL, E.A.: Free amino acids of the tsetse fly (Glossina). Nature, Lond. 187, 778 (1960).

BURSELL, E.: Aspects of the metabolism of amino acids in the tsetse fly, Glossina (Diptera). J. Insect. Physiol. 9, 439 - 452 (1963).

BURSELL, E.: Aspects of the flight metabolism of tsetse flies, Glossina (Diptera). J. Insect. Physiol. 19, 809 - 818 (1966).

BURSELL, E.: The excretion of nitrogen in insects. Adv. Insect. Physiol. 4, 33 - 67 (1967).

BUTLER, C.G.: Bee paralysis, may-sickness, etc.. Bee World 24, 3 - 7 (1943).

CAVALLI-SFORZA, L.: Biometrie. Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik. Stuttgart: Fischer 1969.

CHEFURKA, W.: Intermediary metabolism of nitrogenous and lipid compounds in insects. In "The Physiology of Insecta" (Herausg. M. ROCKSTEIN), Bd. II, S. 670 - 769. New York - London: Academic Press 1965.

CHEN, P.S.: Studies on the protein metabolism of Culex pipiens (L.). I. Metabolic changes of free amino acids during larval and pupal development.
J. Insect. Physiol. 2, 38 - 51 (1958 a).

CHEN, P.S.: Weitere Untersuchungen zur Stoffwechselphysiologie der Mutante letal-meander (lme) von Drosophila melanogaster.
Arch. Julius Klaus Stift. Vererbforsch. 33, 82 - 90 (1958 b).

CHEN, P.S.: Free amino acids in insects. In "Amino Acid Pools" (Herausg. J.T. HOLDEN), S. 115 - 135.
Amsterdam: Elsevier 1962.

CHEN, P.S.: Amino acid and protein metabolism in insect development.
Adv. Insect. Physiol. 3, 53 - 132 (1966).

CHEN, P.S., HADORN, E.: Vergleichende Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der larvalen Haemolymphe von Drosophila melanogaster, Ephestia und Corethra.
Revue suisse Zool. 61, 437 - 451 (1954).

CHEN, P.S., HADORN, E.: Zur Stoffwechselphysiologie der Mutante letal-meander (lme) von Drosophila melanogaster.
Revue suisse Zool. 62, 338 - 347 (1955).

CHEN, P.S., KÜHN, A.: Vergleichende Untersuchungen der freien Aminosäuren und Peptide während der Raupen- und Puppenentwicklung verschiedener Genotypen von Ephestia kühniella.
Z. Naturf. 20, 307 - 312 (1956).

CHIPPENDALE, G.M.: Metamorphic changes in haemolymph and midgut proteins of the southwestern corn borer, Diatraea grandiosella.
J. Insect. Physiol. 16, 1909 - 1920 (1970).

CLELAND, R., KARLSNES, A.M.: A possible role of hydroxyproline-containing proteins in the cessation of cell elongation.
Pl. Physiol. Lancaster 42, 669 - 671 (1967).

CORRIGAN, J. J. : Nitrogen metabolism in insects. In "Comparative Biochemistry of Nitrogen Metabolism" (Herausg. J. W. CAMPELL), S. 387 - 487, New York - London: Academic Press 1970.

COWLING, E. B., MERILL, W. : Nitrogen in wood and its role in wood deterioration.
Can. J. Bot. 44, 1539 - 1554 (1966).

CRAIG, R. : The physiology of excretion of the insect.
A. Rev. Ent. 5, 53 - 68 (1960).

CROOK, E. M., HOLDEN, M. : Some factors affecting the extraction of nitrogenous materials from leaves of various species.
Biochem. J. 43, 181 - 185 (1948).

CROWELL, H. H. : The utilization of certain nitrogenous and carbohydrate substances by the southern army worm, Prodenia eridiana Cram..
Ann. Entomol. Soc. Am. 34, 503 - 512 (1941).

DEVENYI, T., GERGELY, J. : Analytische Methoden zur Untersuchung von Aminosäuren, Peptiden und Proteinen.
Frankfurt a. M. : Akad. Verlagsges. 1968.

DIETRICHS, H. H. : Freie und gebundene Aminosäuren im Holz und in den Blättern der Rotbuche (Fagus sylvytica Linn.), Eiche (Quercus robus Linn.) und Birke (Betula alba Linn.).
Holzforschung 23, 177 - 181 (1969)

DUCHÂTEAU, G. H., FLORKIN, M. : Constitution de la composante protidique non protéique de l'hémolymphe des chenilles et des chrysalides de Sphinx ligustri L.
Bull. Soc. Chim. biol. 37, 239 - 245 (1955).

DÜRR, H. J. R. : The morphology and bionomics of the european house borer, Hylotrupes bajulus (Coleoptera: Cerambycidae).
Pretoria. Ent. Mem. 4, 1 - 122 (1957).

DURZAN, D.J., LOPUSHANSKI, S.M.: Free and bound amino acids of spruce budworm larvae feeding on balsam fir and red and white spruce.
J. Insect. Physiol. 14, 1485 - 1497 (1968).

EVANS, A.C.: The utilization of food by the larvae of the buff-tip, Phalera bucephala (Linn.).
Proc. Roy. Ent. Soc. London 14, 25 - 30, (1939 a).

EVANS, A.C.: The utilization of food by certain lepidopterous larvae.
Trans. Roy. Ent. Soc. London 89, 13 -22 (1939 b).

FALCK, R.: Die Scheindekonstruktion des Koniferenholzes durch die Larven des Hausbockes (Hylotrupes bajulus L.)
Cellulosechemie 11, 89 - 91 (1930).

FLORKIN, M.: The free amino acids of insect hemolymph.
In "Biochemistry of Insects" (Herausg. L. LEVENBOOK), London: Pergamon Press 1959.

FRESENIUS, R.: Zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl mit dem Apparat von J.K. Parnas.
Z. analyt. Chem. 114, 275 - 278 (1938).

GARCIA, I., TIXIER, M., ROCHE, J.:
J. Compt. rend. soc. biol. 150, 632 - 634 (1956)
zitiert in: CRAIG, R.: The physiology of excretion in the insect.
A. Rev. Ent. 5, 53 - 68 (1960).

GILBERT, L.I., SCHNEIDERMAN, H.A.: Some biochemical aspects of insect metamorphosis.
Am. Zool. 1, 11 - 51 (1961).

GILMOUR, D.: The Biochemistry of Insects.
New York: Academic Press 1961.

GILMOUR, D.: The Metabolism of Insects.
London: Oliver & Boyd 1965.

GÖSSWALD, K.: Richtlinien zur beschleunigten Heranzucht der Larven des Hausbocks Hylotrupes bajulus L..
Nachr.bl. Deutsch. Pflanzenschutzdienst Nr. 3, 1939.

GORDON, H. T.: Axenic culture of invertrebrate Metazoa: A goal.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 77, 290 - 352 (1959).

GOTTSCHALK, A.: Interactions between reducing sugars and amino acids unter neutral and acidic conditions.
In "Glycoproteins" (Herausg. A.GOTTSCHALK), S. 96 - 111.
Amsterdam: Elsevier Press 1966.

GREENE, J.R., DAHLMAN, J., DAHLMAN, D.L.: Haemolymph protein patterns during developing tobacco hornworm larvae.
J. Insect. Physiol. 19, 1241 - 1250 (1973).

HACKMAN, R.H.: Changes in the free amino acids of blood of blowfly larvae at metamorphosis.
Aust. J. biol. Sci. 9, 400 - 405 (1956).

HENRY, S.M., COOK, T.W.: Amino acids in proteins of the black blowfly, Phormia regina (Meigen), at various stages of development.
Contrib. Boyce Thompson Inst. 22, 133 - 140 (1964).
zitiert in: LEVENBOOK, L., DINAMARCA, M.-L.: Free amino acids and related compounds of the blowfly Phormia regina.
J. Insect. Physiol. 12, 1343 - 1362 (1966).

HIRS, C.M.W., STEIN, W.H., MOORE, S.: The amino acid composition of ribonuclease.
J. biol. Chem. 21, 941 - 950 (1954).

HODGES, J.D., BARRAS, S.J., MAULDIN, J.K.: Free and protein-bound amino acids in inner bark of loblolly pine.
For. Science 14, 330 - 333 (1968).

HORN, O.: Über die chemische Veränderung von Kiefernholz durch die Larven des Hausbocks (Hylotrupes bajulus L.).
Abh. z. Kenntn. d. Kohle 10, 23 - 31 (1930).

HOUSE, H. L.: Insect Nutrition. In "The Physiology of Insecta". (Herausg. M. ROCKSTEIN), Bd. II, S. 769 - 813.
New York - London: Academic Press 1965.

HUDSON, A.: Proteins in the haemolymph and other tissues of the developing tomato hornworm, Protoparce quinquemaculata Haworth.
Can. J. Zool. 44, 541 - 555 (1966).

IRREVERRE, F., LEVENBOOK, L.: Effect of diet on the occurence of S-methylcysteine and the free amino acid pattern in insect blood.
Biochem. Biophys. Acta 38, 358 - 360 (1960).

IRREVERRE, F., TERIZAN, L. A.: Nitrogen partition in excreta of three species of mosquitos.
Science 129, 1358 - 1359 (1959).

JANY, J., MORVAY, A.: Über die Ausführung der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.
Z. analyt. Chem. 114, 120 - 125 (1938).

KARLSON, P., SEKERI, K. E., MARMARAS, V. I.: Die Aminosäurezusammensetzung der verschiedenen Proteinfraktionen aus der Cuticula von Calliphora erythrocephala in verschiedenen Entwicklungsstadien.
J. Insect. Physiol. 15, 319 - 323 (1969).

KARNAVAR, G. K., NAIR, K. S. S.: Changes in body weight, fat, glycogen and protein during diapause of Trogoderma granarium.
J. Insect. Physiol. 15, 95 - 103 (1969).

KAUFMANN, O., SCHUCH, K.: Folgerungen aus der deutschen Hausbockstatistik.
Herausg. Verband öff. Feuerversicherungsanst. in Deutschland
Berlin-Dahlem 1938.

KING, N.J., BAYLEY, S.T.: A preliminary analysis of the proteins in the primary walls of some plant cells.
J. exp. Bot. 16, 294 - 303 (1965).

KIRSTEN, E., KIRSTEN, R., ARESE, P.: Das Verhalten von freien Aminosäuren, energiereichen Phosphorsäureverbindungen und einigen Glykolyse- und Tricarbonsäurecyclus-Substraten in Muskeln von Locusta migratoria bei der Arbeit.
Biochem. Z. 337, 167 - 178 (1963).

KIVILAAN, A., BEAMAN, T.C., BANDURSKI, R.S.: Enzymatic activities associated with cell wall preparations from corn coleoptiles.
Plant. Physiol. 36, 605 - 610 (1961).

KNUDSEN, P., CYMOREK, S., BAKKE, A.: On the growth rate of Hylotrupes bajulus (L.) (Col. Cerambycidae) in timber after storing in water and on land.
Material und Organismen 4, 99 - 107 (1969).

KÖRTING, A.: Biologische Untersuchungen über die Entwicklung von Hylotrupes bajulus L. (Hausbockkäfer).
Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch. Berlin 96, 35 (1959).

KÖRTING, A.: Zur Entwicklung und Schadtätigkeit des Hausbockkäfers (Hylotrupes bajulus L.) in Dachstühlen verschiedenen Alters.
Anz. Schädlingskde. 34, 150 - 153 (1961).

KÖRTING, A.: Die Entwicklung des Hausbockkäfers in Dachstühlen verschiedenen Alters.
Holzschutz im Bauwesen 26, 57 - 65 (1962).

KÖRTING, A.: Über das Verhalten von Hausbockkäferlarven in verschiedenen Splintholzzonen.
Anz. Schädlingskde. 38, 1 - 4 (1965).

KÖRTING, A.: Zur Entwicklung des Hausbockkäfers in Kiefernholz verschiedenen Alters.
Material und Organismen 1, 221 - 240 (1965).

KOLTHOFF, I. M.: Die Maßanalyse, II. 2. Aufl. 64, 177 (1931).

LAIDLAW, R. A., SMITH, G. A.: The proteins of the timber of scots pine (Pinus sylvestris).
Holzforschung 19, 129 - 134 (1965).

LAMPORT, D. T. A., NORTHCOTE, D. H.: Hydroxyproline in primary cell walls of higher plants.
Nature, Lond. 188, 665 -666 (1960).

LEGGETT-BAILEY, J.: Techniques in protein chemistry.
Amsterdam - London - New York: Elsevier Publ. Comp. 1967.

LEVENBOOK, L.: The distribution of free amino acids, glutamine, and glutamate in the southern armyworm, Prodenia eridiana.
J. Insect. Physiol. 8, 559 - 567 (1962).

LEVENBOOK, L.: Haemolymph amino acids and peptides during larval growth of the blowfly Phormia regina.
Comp. Biochem. Physiol. 18, 341 - 351 (1966).

LEVENBOOK, L., DINAMARCA, M. L.: Free amino acids and related compounds during metamorphosis of the blowfly Phormia regina.
J. Insect. Physiol. 12, 1343 - 1362 (1966 a).

LEVENBOOK, L., DINAMARCA, M. L.: Effect of diet on amino acid profiles during metamorphosis of the blowfly Phormia regina Meigen.
J. Insect. Physiol. 12, 1475 - 1478 (1966 b).

LIPKE, H., FRAENKEL, G.: Insect nutrition.
A. Rev. Ent. 1, 17 -44 (1956).

LÜDTKE, M., LERCH, B.: Über die Aminosäuren der Hautsubstanz pflanzlicher Faserzellen.
Holzforschung 22, 1 - 8 (1968).

LÜDTKE, M., LIEFLÄNDER, M.: Quantitative Bestimmung der Aminosäuren im Wandprotein von pflanzlichen Faserzellen.
Holzforschung 24, 33 - 37 (1970).

MARAVALHAS, N.: A new technique of protein hydrolysis and analysis of the amino acids on an autoanalyzer.
J. Chromatog. 50, 413 - 418 (1970).

MAULDIN, J.K., SMYTHE, R.V.: Protein-bound amino acid content of normally and abnormally faunated formosan termites, Coptotermes formosans.
J. Insect. Physiol. 19, 1955 - 1960 (1973).

MANSINGH, A.: Changes in the free amino acids of the haemolymph of Antheraea pernyi during induction and termination of diapause.
J. Insect. Physiol. 10, 1645 - 1655 (1967).

MAYNARD, L.A.: Animal nutrition. New York: McGraw - Hill 1937.

MERILL, W., COWLING, E.B.: Role of nitrogen in wood deterioration: Amounts and distribution of nitrogen in tree stems.
Can. J. Bot. 44, 1555 - 1580 (1966).

MITLIN, N., MAULDIN, J.K., HEDIN, P.A.: Free and protein bound amino acids in the tissues of the boll weevil, Anthonomus grandis Boheman (Coleoptera: Curculionidae), during metamorphosis.
Comp. Biochem. Physiol. 19, 35 - 43 (1966).

MULLINS, D.E., COCHRAN, D.G.: Nitrogenous excretory materials from the american cockroach.
J. Insect. Physiol. 19, 1007 - 1018 (1973).

NICKEL, S.: Beitrag zur quantitativen Proteinstickstoff-Bestimmung in Holz.
Holzforschung 14, 150 - 152 (1960).

NOMOTO, M., NARAHASHI, Y., MURAKAMI, M.: A proteolytic enzyme of Streptomyces griseus. VI. Hydrolysis of protein by Streptomyces griseus protease.
J. Biochem. 48, 593 - 602 (1960 a).

NOMOTO, M., NARAHASHI, Y., MURAKAMI, M.: A proteolytic enzyme of Streptomyces griseus. VII. Substrate specificity of Streptomyces griseus protease.
J. Biochem. 48, 906 - 918 (1960 b).

PÄTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (Eine neue t-Tafel).
Biol. Zbl. 63, 152 - 168 (1943).

PARNAS, J.K.: Über die Ausführung der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in der Modifikation von Parnas und Wagner.
Z. analyt. Chem. 114, 261 - 275 (1938).

POPOVIC, B.: Untersuchungen über den Stickstoffgehalt von Kiefernstammholz in einigen älteren Beständen Schwedens.
Oikos 17, 84 - 95 (1966).

POWNING, R.B.: Studies on the digestion of wool by insects. VIII. The significance of certain excretory products of the clothes moth, Tineola biselliella, and the carpet beetle, Attagenus piceus.
Aust. J. biol. Sc. 6, 109 - 117 (1953).

RAMSAY, J.A.: Excretion by the malphigian tubules of the stick insect, Dixippus morosus (Orhtoptera, Phasmidae): amino acids, sugar and urea.
J. exp. Biol. 35, 871 - 891 (1958).

RASMUSSEN, S.: Nutritional preference experiments with larvae of house longhorn beetle, Hylotrupes bajulus.
Oikos 7, 82 - 97 (1956).

RASMUSSEN, S.: Simultaneous analysis of several growth factors in Hylotrupes bajulus.
Oikos 8, 65 - 82 (1957).

RAUEN, H.M., BUCHKA, M.: Über die Veraschungsdauer bei der Mikrostickstoff-Bestimmung nach Kjeldahl.
Z. angew. Chem. 60, 209 - 210 (1948).

SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden.
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1968.

SCHAEFER, C.H.: Free amino acids of the virginia pine sawfly, Neodiprion pratti Dyar: Their chromatographic determination and biosynthesis.
J. Insect. Physiol. 10, 363 - 369 (1964).

SCHLOTTKE, E., BECKER, G.: Verdauungsfermente im Darm der Hausbockkäferlarven.
Biologia gener. 16, 1 - 11 (1942).

SCHUCH, K.: Experimentelle Untersuchungen über den Nahrungswert von Kiefern- und Fichtenholz für die Larven des Hausbockkäfers.
Z. Pflanzenkrankh. 47, 572 - 583 (1937 a)

SCHUCH, K.: Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Larve des Hausbockkäfers (Hylotrupes bajulus L.).
Z. angew. Ent. 23, 547 - 558 (1937 b).

SCHUCH, K.: Ernährungsphysiologische Untersuchungen über den Hausbockkäfer und Folgerungen für die Praxis.
Arb. über physiol. und angew. Entomologie, Berlin, 5, 352 - 356 1938.

SCHUCH, K.: Zur Hausbockkäferbekämpfung.
Holz als Roh- und Werkst. 2, 235 - 238 (1939).

SCHUCH, K.: Stand und Problematik der ökologischen Erforschung des Hausbockkäfers.
Z. angew. Zool. 4, 49 - 70 (1954).

SCHULTZE-DEWITZ, G.: Beobachtungen über die Beständigkeit der Gewichtszunahme der Larven des Hausbockes (Hylotrupes bajulus L.).
Tagungsber. No. 11, Ber. 8. Wandervers. Dt. Entomologen, 44 - 53 (1957).

SCURFIELD, G., NICHOLLS, P.W.: Amino-acid composition of wood protein.
J. exp. Bot. 21, 857 - 868 (1970).

SEIFERT, K.: Die chemische Veränderung der Holzzellwand-Komponenten unter dem Einfluß pflanzlicher und tierischer Schädlinge.
Holzforschung 16, 148 - 154 (1962).

SERGEJEWA, A.S.: Chemie des Holzes und der Cellulose.
Dresden - Leipzig: Steinkopf 1959.

SMITH, B.C.: Als persönliche Mitteilung zitiert in: HOUSE, H.L.: Insect nutrition. In "The Physiology of Insecta".
(Herausg. M.ROCKSTEIN), Bd. II, S. 769 - 813.
New York - London: Academic Press 1965.

SPECK, U., URICH, K.: Das Schicksal der Nährstoffe bei dem Flußkrebs Orconectes limosus: Einbau von Glucose-U-^{14}C, Glutamat-U-^{14}C in die verschiedenen Stoffklassen.
Z. vergl. Physiol. 63, 395 - 404 (1969).

SPILS, J.R., CHAMBERS, D.C.: Anal. Chem. 21, 1249 (1949).
Zitiert in: HINSBERG, K., LANG, K.: Medizinische Chemie, 3. Aufl. S. 879, Müchen - Berlin - Wien: Urban & Schwarzenbeck 1957.

SPIRO, R.G.: The carbohydrate units of Thyroglobulin.
J. Biol. Chem. 240, 1603 - 1610 (1965).

SREENIVASAN, A., SADASIVAN, V.: Der Mechanismus der katalytischen Wirkung des Selens bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.
Z. analyt. Chem. 116, 244 - 252 (1939).

STIDHAM, J.D., LILES, J.N.: Free amino acid composition of the ageing female mosquito Aedes aegypti as determined by automatic ion-exchange chromatography.
J. Insect. Physiol. 15, 1969 - 1980 (1969).

STRONG, F.E.: The effect of nitrogen starvation on the concentration of free amino acids in Myzus persicae (Sulzer) (Homoptera, Aphidae).
J. Insect. Physiol. 10, 519 - 523 (1964).

TECHNAU, G., BEHRENS, W.: Erfahrungen in der Zucht von Hylotrupes bajulus L..
Holz als Roh- und Werkstoff 16, 90 - 94 (1958).

THAYER, D.W., TERIZAN, L.A.: Free amino acids and related compounds in the tissues of ageing female Aedes aegypti mosquito.
J. Insect. Physiol. 16, 1 - 15 (1970).

THOMPSON, E.W., PRESTON, R.D.: Evidence for a structural role of protein in algal cell walls.
J. exp. Bot. 19, 690 - 697 (1968).

THORP, C.R.: Diss. Salford, 1969. Zitiert in: THORNTON, D.R., MC EVOY, J.: A comparison of methods for the extraktion of amino acids from fungal mycelium.
Experientia 26, 24 - 25, (1970).

TRÄGARDH, L.: Untersuchungen über die Verbreitung und das Auftreten der holzzerstörenden Insekten in öffentlichen Gebäuden in Schweden.
Z. Pflanzenkrkh. 48, 295 - 302 (1938).

TRAGER, W.: Nutrition. In "Insect Physiology", (Herausg. K.D. ROEDER), S. 350 - 386. New York: Wiley 1953.

TRENDELENBURG, R.: Das Holz als Rohstoff.
Leipzig : Lehman 1940.

UWAROW, B.: Natur 10, 897 (1928), zitiert in SEIFERT, K.: Die chemische Veränderung der Holzwandkomponenten unter dem Einfluß pflanzlicher und tierischer Schädlinge.
Holzforschung 16, 148 - 154 (1962).

VILLENEUVE, J. L.: Influence du régime alimentaire sur la concentration en acides aminés non protéiques dans l'hémolymphe des larves âgées de Agria affinis (Fall.).
J. Insect. Physiol. 8, 585 - 588 (1962).

VITÉ, J. P. Die holzzerstörenden Insekten Mitteleuropas.
Göttingen: Musterschmidt, Wissenschaftlicher Verlag, 1952.

WEISS, F.: Nogle Vandog Kvaelstofbestemmelser i stammer af Fyr og Gran.
Det. Forstl. Forsoks. Dan. 1, 113 - 116 (1905).
zitiert bei BECKER, G. Holz als Roh- und Werkstoff, 20, 368 - 375, (1962).

WHITE, A., HANDLER, P., SMITH, E. L.: Principles of Biochemistry.
New York: McGraw - Hill 1964.

WHITE, M. G.: Effects of nutrient impregnations of pine sapwood on the growth of larvae of the old-house borer (Hylotrupes bajulus L.).
J. econ. Ent. 55, 722 - 724 (1962).

WICHMAND, H.: Wie lange dauert ein Hausbockbefall ?
Anz. Schädlingskde. 17, 21 - 24 (1941).

WIENINGER, F. M.: Nachtrag zur Schnellstickstoffbestimmungsmethode mit Selen als Beschleuniger.
Wochenschrift für Brauerei 53, 251 - 252 (1936).

WITTMANN, H. G.: Vergleich der Proteine des Normalstammes und einer Nitritmutante des Tabakmosaikvirus.
Zeitschr. f. Vererbungslehre 90, 463 - 475 (1959).

WYATT, G. R., LOUGHEED, T. C., WYATT, S. S.: The chemistry of insect haemolymph. Organic components of the haemolymph of the silkworm, Bombyx mori, and two other species.
J. gen. Physiol. 39, 853 - 868 (1956).

WYATT, G.R.: The biochemistry of insect hemolymph.
A. Rev. Ent. 6, 75 - 102 (1961)

YEMM, E.W., COCKING, E.C.: The determination of amino-acids with Ninhydrin.
Analyst 80, 209 - 213 (1955).

Herrn Prof. Dr. G. Becker möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und des Versuchsmaterials, sowie für sein Interesse am Fortgang der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. K. Urich und Herrn Prof. Dr. H. Clauss für ihre hilfreiche Unterstützung der Arbeit.

Herrn Dr. H. Kühne, Herrn Dr. H. J. Petrowitz und Herrn Dr. U. Speck danke ich für kritische Hinweise und anregende Diskussionen.

Herrn Dipl.-Math. Dr. W. Köhler danke ich für die Erstellung des Rechenprogrammes und meinem Mann, Herrn Dipl.-Biol. Hartmut Adelsberger, für das Schreiben des Manuskriptes.

Lebenslauf

15. 10. 1942	geboren in Mährisch-Ostrau/Tschechoslowakei als Tochter von Valerie und Karl Harden
1946	Evakuierung nach Deutschland
1948	Einschulung in die Volksschule Belsenberg/Bad. -Württbg.
1950	Wohnortwechsel nach Künzelsau/Bad. -Württbg. und Umschulung in die Volksschule Künzelsau
1952	Schulwechsel zum Gymnasium Künzelsau
14. 3. 1961	Abitur am mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig des Gymnasiums Künzelsau
1961/62	Apothekenpraktikantin in der Palm-Apotheke in Marbach am Neckar
14. 3. 1962	Immatrikulation an der Albert-Ludwig-Universität Freiburg i. Br. in Chemie, Biologie und Geographie
7. 11. 1963	Immatrikulation an der Freien Universität Berlin
1966/69	Studentische Hilfskraft am Institut für Pflanzenphysiologie FU Berlin
13. 2. 1969	Erste (Wissenschaftliche)Staatsprüfung vor dem Wissenschaftlichen Landesprüfungsamt Berlin in Biologie, Chemie und Pädagogik
21. 7. 1969	Eheschließung mit Hartmut Adelsberger
1969/71	Aushilfslehrkraft am Tannenberg-Gymnasium in Berlin-Lichterfelde für das Fach Chemie
1969/70	Wissenschaftliche Angestellte in der Bundesanstalt für Materialprüfung Berlin
1. 11. 1970	Teilzeitassistentin am Institut für Pflanzenphysiologie und Zellbiologie der Freien Universität Berlin
1. 4. 1974	Ernennung zur Wissenschaftlichen Assistentin